This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

QR
75
H8
1906
UC-NRLF
$B 96 870

LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF CALIFORNIA.
RECEIVED BY EXCHANGE
Class
BIOLOGY
LIBRARY
G

Ueber Form und Bau der Kolonieen niederer Pilze.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Philosophischen Fakultät

der

Georg August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Henry B. Hutchinson

aus **Bolton, England.**

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Jena,

Gustav Fischer.

1906.

QR 75
H 8
BIOLOGY
LIBRARY
G

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Juni.
Referent: Herr Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fleischmann.

Die vorliegende Arbeit wurde im milchwirtschaftlichen Laboratorium des landwirtschaftlichen Institut der Universität zu Göttingen in der Zeit von Ostern 1904 bis Ostern 1906 ausgeführt.

LIBRARY OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Einleitung.

In der Bakteriologie wird vielfach das Aussehen der Kolonieen für diagnostische Zwecke gebraucht. Je nach der Form, dem allgemeinen Typus, der Farbe, der Reaktion, der Gelatineverflüssigung u. s. w. können die Kolonieen der niederen Organismen in verschiedene allgemeine Gruppen geteilt werden. Obgleich viele Unterschiede ohne weiteres wahrnehmbar sind, haben doch die Glieder jeder Gruppe gewöhnlich so viele gemeinsame Eigenschaften, daß sich nur in Ausnahmefällen eine gewisse Kolonieenform mit Sicherheit als die eines bestimmten Mikroorganismus bezeichnen läßt.

Es ist nicht meine Absicht, das Aussehen der Kolonieen für diagnostische Zwecke zu studieren, sondern vielmehr die Kolonieen einiger weniger Typen von Organismen näher zu untersuchen, die verschiedenen Umstände aufzufinden, welche einen Einfluß auf die Form haben, und womöglich die Ursachen der Unterschiede zwischen einzelnen Kolonieen zu erforschen.

Abgesehen von den Beschreibungen, welche diagnostischen Zwecken dienen, hat man den Formen und Wachstumserscheinungen der Kolonieen bisher nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt.

In den bakteriologischen Lehrbüchern findet man hierüber entweder gar nichts oder nur wenige Worte, so daß sich von Literaturangaben nur sehr wenig anführen läßt.

A. Geschichtliches.

Münden (1) spricht in seiner Arbeit neue, aber sehr wunderbare Ansichten aus. Er untersuchte die Bakterienkolonieen auf Gelatineplatten bei Zimmertemperatur und bei 28° C (!).

In seinem 4. Beitrag beschreibt er Beobachtungen über die Kolonieen von Bac. typhi abdominalis, Vibrio cholerae asiaticae und Bact. coli commune, und versucht, an den Kolonieen dieser Organismen eine Identität mit den höheren Typen des Zelllebens nachzuweisen.

Er spricht von Kolonieen, welche durch Zerklüftungen und Spaltbildungen aus dem erst vollständigen soliden Körper ein vielzelliges Individuum bilden, weiter von Teilungsvorgängen, einem Ausführungs-

166233

gang, Exkretkanal der Kolonieen u. s. w. Als Charakteristikum der Kolonieen von Bac. typhi abdominalis gibt er die Entstehung eines regelmäßigen konzentrischen Baues an. Weiter spricht er von einem Hyalinschleier, von Pseudopodienkranz, von Plattenepithel, chitinartiger Hülle, Zentral-Körper, -Kanal und -Hülle. Ich werde weiter unten zeigen, daß die Erscheinungen, die er in dieser Weise deutete, entweder auf physiologische oder physikalische Ursachen oder auf falsche Beobachtungen zurückzuführen sind.

Einige Jahre später erschien die Arbeit von St. Serkowski (2). Da mir die Originalarbeit leider nicht zugänglich war, mußte ich mich mit verschiedenen Referaten begnügen.

Serkowski kommt zu dem Schluß, daß die bisherige Differentialdiagnose der Bakterien vom wissenschaftlichen Standpunkt aus als unzureichend und vom praktischen Standpunkt aus als unbequem bezeichnet werden müsse, und glaubt in dem Bau der Kolonieen eine Grundlage für eine neue Klassifikation der Bakterien und eine Erleichterung für die Differentialdiagnose gefunden zu haben.

„Den Ausgangspunkt für die Anschauung bildet die vom Verf. festgestellte Tatsache, daß die Bakterienkolonieen einen ziemlich komplizierten Bau aufweisen, und daß bei einzelnen Bakterienarten ein bestimmter Typus konstant zu beobachten ist. Die Untersuchungen des Verf. sind an in festen Nährmedien kultivierten Bakterien angestellt und die Kolonieen wurden von ihm bei verschiedenen Vergrößerungen in der Weise untersucht, daß er sie in entsprechender Weise zerkleinerte und bald das Zentrum, bald die Peripherie entfernte oder keilförmige und andere Defekte machte u. s. w.“

„In jeder Bakterienkolonie liegt ein „zentrales Gebilde“, welches häufig mit bloßem Auge gut sichtbar ist und welches bei genauer Untersuchung sich als ein spezielles Organ der Kolonie von ziemlich kompliziertem, für wohl charakterisierte Bakteriengattungen konstantem Bau herausstellt.“

„Dieses zentrale Gebilde (Matrix) ist als Keimzentrum anzusehen. Er spricht weiter von einem Zentralkanal, durch welchen die Zufuhr des für das Keimzentrum nötigen reichlichen und frischen Materials erfolgt.“

„Nach ihm sollen Intercellularsubstanz, Parenchym und innere Tochterkolonieen vorkommen, auch sollen die Kolonieen je nach der Bakteriengattung verschiedenartig zusammengesetzt sein und soll es gleichmäßige, granulierte, kugelförmige, sternförmige, konzentrisch ringförmige u. s. w. Kolonieen geben.“

„Es liegt, wie er meint, die Annahme nahe, daß in den sternförmigen Kolonieen die Radien eine Art von Skelett bilden, und daß der konzentrische Bau eine gleichmäßige Verteilung der Säfte erleichtert.“

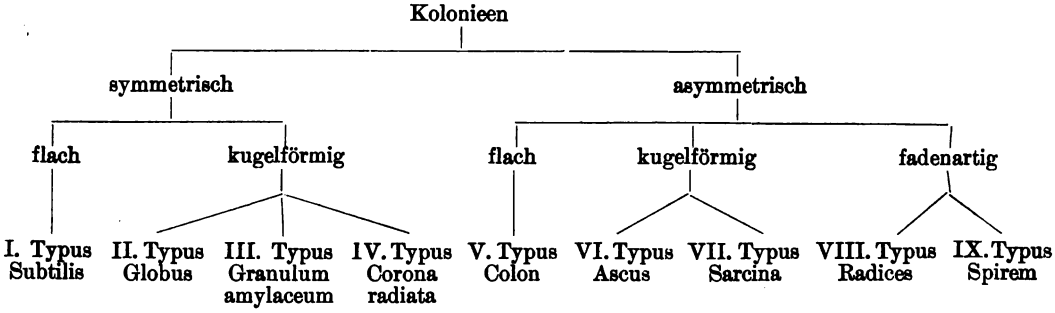
„Beim Typus Coli und ähnlichen weinblattförmigen Kolonieen sind stets vom Zentrum aus astförmig sich verzweigende Furchen sichtbar, welche möglicherweise eine den in Pflanzenblättern vorkommenden Gefäßbündeln analoge Bedeutung besitzen. Alle Bakterienkolonieen zeigen eine gemeinsame, doppelt konturierte Hülle, durch welche die inneren Tochterkolonieen zusammengehalten werden.“

„Auf Grund der Tatsache, daß sonst jede Bakterienkolonie aus wohl charakterisierten Teilen zusammengesetzt ist, und diese Zusammensetzung immer und unter verschiedensten Lebensbedingungen für jede Gattung

konstant bleibt, muß die Bakterienkolonie als ein zusammengesetzter Organismus aufgefaßt werden."

„Die chemische Zusammensetzung des Nährmediums ist nicht imstande, den Typus der Kolonieen irgend einer Bakteriengattung umzugestalten. Durch die verschiedene Beschaffenheit der Nährböden ist man imstande, nur die Wachstumsgeschwindigkeit, die Farbe, die Größe, die Durchsichtigkeit, das Peptonisierungsvermögen der Kolonie zu beeinflussen, ihr Bau und ihre feinere Zusammensetzung bleibt unverändert."

Auf Grund seiner Arbeit schlägt der Verf. für die Einteilung der Bakterien das folgende System vor:



I. Typus. Subtilis, flache, konzentrisch ringförmige Kolonieen: Bac. subtilis, Proteus vulgaris, Bac. fluorescens liquefaciens.

II. Typus. Globus, massive kugelförmige Kolonieen: Micrococcus tetragenes flavus, Sarcina ventriculi.

III. Typus. Granulum amylaceum, konzentrisch kugelförmige Kolonieen: Micr. concentricus.

IV. Typus. Corona radiata, konzentrische und strahlenförmige Kolonieen: Micrococcus agilis, Bact. prodigiosum.

V. Typus. Colon, asymmetrische, flache, weinblattförmige Kolonieen: Bact. coli commune.

VI. Typus. Ascus, massive, asymmetrische, septierte Kolonieen.

VII. Typus. Sarcina, schichtenförmige, oberflächliche Kolonieen ohne deutlichen Bau: Sarcina ventriculi.

VIII. Typus. Radices, die Kolonieen setzen sich aus verschiedenartig verwickelten, vom Keimzentrum aus entspringenden Fäden zusammen: Proteus mirabilis, Bact. lactis.

IX. Typus. Knäuelförmige Kolonieen: Bac. mesentericus vulgatus.

Obgleich die Kolonieenform im allgemeinen ziemlich konstant ist, zeigt sie doch im einzelnen so große Verschiedenheiten, daß das System Serkowskis als unbrauchbar bezeichnet werden muß.

Die Bedingungen, welche die Kolonieenform beeinflussen, sind so mannigfaltig, daß ein Organismus manchesmal in mehrere der oberen Typen eingereiht werden muß, so z. B. Sarcina ventriculi in Typus II und VII.

Als nächste Arbeit auf diesem Gebiete wäre die von Axelrad (3)

zu erwähnen. Auch er untersuchte die Bakterienkolonieenformen in Bezug auf ihre Brauchbarkeit für diagnostische Zwecke und schreibt hierüber: „Die morphologischen und biologischen Kenntnisse der Bakterien sind nur durch das kontinuierliche Studium des Einzelwesens zu erzielen: das Wachstum des einzelnen Individuums zu einer Kolonie soll ein wichtiges und wertvolles differential-diagnostisches Merkmal sein, was von Seiten vieler Bakteriologen übereinstimmend angenommen wird; trotzdem sind bis heute keine genaueren Angaben über die Verwertung dieses Merkmals gemacht worden". In seiner Arbeit hatte er die Erfahrung gemacht, daß die Entwickelung bezw. die Formbildung der Kolonieen nicht nur von der Temperatur und der Art des Nährbodens abhängt, sondern auch von der Quantität des Impfmaterials sehr stark beeinflußt wird, und zwar in tiefgreifender Weise, daß bei reichlicherer bezw. spärlicherer Aussaat gleicher Reinkulturen Kolonieen entstehen, die sich morphologisch vollständig verschieden verhalten.

Verf. benutzte die Klatschpräparatmethode zur Untersuchung der Struktur der Bakterienkolonieen. Der letzte Teil seiner Arbeit behandelt die Brauchbarkeit der Kolonieformen für diagnostische Zwecke.

Flügge [zit. nach Axelrad (3)] äußert sich über diesen Gegenstand wie folgt: „Nur auf den festen Nährböden kann man die charakteristischen Merkmale der von einer bestimmten Bakterienart gebildeten Kolonie rein zur Anschauung bekommen. Gerade die äußeren Merkmale der isolierten reinen Kolonieen sind aber deshalb von großer Bedeutung, weil dieselben fast für jede Bakterienart modern sind, und weil sich auf diese Weise viel prägnantere Charaktere und besser unterscheidende Kennzeichen darbieten als mit Hilfe der mikroskopisch wahrnehmbaren Formdifferenzen. Aus diesem Grunde läßt sich das Aussehen der isolierten Kolonieen besonders gut zu einer diagnostischen Erkennung der Bakterien benutzen, die sonst auf so große Schwierigkeiten stößt. Es kommt aber sehr oft der Fall vor, daß mehrere Arten in ihrem Wachstum auf Platten ähnlich sind, sowohl in Gestalt als Farbe und Größe, darum ist es notwendig, ein Mittel zu finden, womit man die Kolonieen voneinander leichter unterscheiden kann."

Gotschlich (5) betrachtet die Kolonieenbildung etwas kritischer und geht auf die beobachteten Gesetzmäßigkeiten näher ein. „Das Wachstum und die Bildung der Kolonieen stellen eines der wichtigsten Artcharakteristika dar; die durch Zellteilung entstandenen, neu gebildeten Individuen lagern sich, besonders auf festen Nährböden, in einer bei den einzelnen Arten verschiedenen, durchaus gesetzmäßigen Weise aneinander, und bilden so makroskopisch (bezw. in ihrem Detail bei schwacher Vergrößerung) sichtbare Kolonieen. Der biologische Mechanismus, welcher dieses gesetzmäßige und vielfach spezifische Zusammenwirken zahlloser Einzelwesen (deren jedes doch für sich durchaus selbständig ist), zu einem gemeinsamen Gebilde beherrscht, ist noch ganz unbekannt.

„Es hat nicht an (teilweise gänzlich kritiklosen und phantastischen) Versuchen gefehlt, die Bakterienkolonieen als wirklichen vielzelligen Organismus oder wenigstens als Zellstaat zu erklären. Es fehlt jedoch der Nachweis dafür, daß den in verschiedenen Partieen der Kolonieen gelegenen Bakterien irgendwelche morphologische oder physiologische Differenzierung zukäme, vollständig; im Gegenteil, es erweisen sich die aus verschiedenen Teilen der Kolonieen abgeimpften Bakterien stets unter sich als ganz gleichartig".

Auf diesen letzten Punkt werde ich in dem 2. Teile meiner Arbeit ausführlich zurückkommen.

B. Die Form der Bakterienkolonieen.

Es läßt sich von vornherein vermuten, daß die einzelnen Bakterienarten je nach der Form der Zelle und deren Teilungsarten nach einer, zwei oder drei Richtungen des Raumes verschiedenartige Kolonieen bilden werden, und es hat sich dies innerhalb bestimmter Grenzen auch als richtig erwiesen.

Nicht nur nach Größe und Dicke, sondern auch durch die eigenartige Beschaffenheit des Kolonierandes unterscheiden sich die Kolonieen der Organismen der verschiedenen Klassen der Schizomyceten, Saccharomyceten und Eumyceten.

Die Kolonieen aller Pilze lassen sich in zwei Klassen teilen, in oberflächliche und tiefliegende Kolonieen. Diese zwei Klassen unterscheiden sich nicht nur durch ihre Lage sowie durch die Art, in welcher die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr erfolgt, sondern auch durch die physikalischen Einflüsse, unter welchen sie entstehen.

1. Tiefliegende Kolonieen.

Die tiefliegenden Kolonieen entstehen durch die Teilung einer im festen Nährsubstrat eingebetteten Zelle.

Man hat wohl ein Recht, anzunehmen, daß die Ernährung solcher Kolonieen auf allen Seiten die gleiche ist. Ist die Kolonie nicht sehr groß oder nicht zu weit von der Oberfläche des Nährsubstrates entfernt, so kann man dies auch wohl für die Sauerstoffzufuhr voraussetzen. Obgleich die Sauerstoffdiffusion im Nährboden nicht sehr stark ist, ist es sehr wahrscheinlich, daß in Kulturen von aërobiotischen Bakterien die Zellen an der äußeren Schicht solcher Kolonieen am besten ernährt werden und infolgedessen am kräftigsten sind. Die Anhäufung von Stoffwechselprodukten in der Mitte der Kolonieen wird einen ungünstigen Einfluß auf die inneren Zellen haben. Es ist leicht einzusehen, daß solche von dem festen Nährmedium eingeschlossenen Kolonieen sich unter Druck befinden müssen und daß wegen dieses nach zwei oder drei Richtungen wirkenden Druckes die Kolonie nur einige wenige Formen annehmen kann. Die tiefliegenden Kolonieen sind meistenteils kugelig, wetzsteinförmig, linsenförmig, zuweilen auch wie mit Fäden oder Borsten versehen, die in das Substrat hineinwachsen. Ihre Form beruht meiner Meinung nach auf physikalischen Einflüssen, zum Teil aber auch auf der Vermehrungsweise der Zellen und den allgemeinen Ernährungsbedingungen.

Der Druck auf die Kolonieen ist nicht immer der gleiche, sondern wechselt je nach den physikalischen Eigenschaften des Substrats. Da die kugelförmigen Kolonieen nur in gelatinehaltigen Medien vorkommen, so muß man vermuten, daß hier ein gleichmäßiger Druck stattfindet. Mit Agar-Agar verhält es sich anders; hier scheint der Druck nach zwei Richtungen des Raumes stärker resp. weniger stark zu sein als nach der dritten. Im ersten Falle entsteht eine wetzsteinförmige Kolonie, im zweiten eine linsenförmige. Möglicherweise übt auch die Vermehrungsrichtung der betreffenden Organismen einen Einfluß aus. In Fig. 1 [1])

1) Schnitt durch eine tiefliegende Kolonie von B. lactis albus.

Tafel I und auch in Kolonieen anderer Organismen sieht man nämlich, daß die Längsachse der Kolonie mit der Vermehrungsrichtung des Organismus zusammenfällt.

Bei der Bildung der kugelförmigen Kolonieen könnten die allgemeinen Ernährungsbedingungen ausschlaggebend sein und zwar:

1) weil von allen Seiten eine gleichmäßige Zufuhr der Nährstoffe stattfinden kann,

2) weil der atmosphärische Sauerstoff zu allen Zellen der äußeren Partieen der Kolonie Zutritt hat,

3) weil der Druck des umgebenden Mediums von allen Seiten gleich ist.

Es kommen aber auch noch andere Kolonieformen als die kugelige in Plattenkulturen vor. Zuweilen findet man Kolonieen, wie sie Fig. 1 No. 1 zeigt.

Fig. 1.

1. Bact. coli-Kolonie in Gelatine.
3. Bac. pabuli acidi nach 4 Tagen. 35° Agar.
4. Bac. prodigiosus nach 1 Tage.
5. Bac. prodigiosus nach 2 Tagen.
6. Bac. prodigiosus nach $2^1/_2$ Tagen.
6a. Bac. prodigiosus, Doppelkolonie.

Wir haben es hier mit einer verhältnismäßig großen Kolonie zu tun, die von zahlreichen kleinen Kolonieen eingeschlossen ist.

Solche Kolonieen können sich, wenn man von der Annahme absieht, die kleineren Kolonieen seien durch eine Vermehrung oder durch Teilungsvorgänge der großen Kolonie[1]) entstanden, in verschiedener Weise bilden, nämlich

1) durch Fortschwimmen einzelner beweglicher Bakterien von der großen Kolonie durch das Nährsubstrat und nachfolgendes Auswachsen zu einer neuen Kolonie,

2) durch eine vorübergehende infolge Temperaturwechsels veranlaßte oder durch eine schwache aber andauernde durch die Bakterien bewirkte Verflüssigung der Gelatine (Ward, Günther etc.) oder

3) durch die Gegenwart von Gruppen oder Haufen von Bakterien in der Gelatine, die während des Gießens der Kulturplatten nicht gleichmäßig verteilt worden sind.

Die Bedingungen, die zur Bildung von wetzstein- und linsenähnlichen Kolonieen führen, sind etwas schwieriger zu finden.

Da diese Form hauptsächlich in Agarkulturen vorkommt, und hier auch zuweilen willkürlich hergestellt werden kann, so muß man annehmen, daß der Agar dem Wachstum nicht nach allen Seiten einen gleichen Druck entgegensetzt.

---

1) Meiner Ansicht nach kann man kaum von Teilungsvorgängen der Bakterienkolonieen sprechen, wie es Münden (siehe oben) getan hat.

Der Agar scheint sich nach zwei Richtungen leichter zu spalten als nach der dritten und deshalb scheinen in diesem Medium die Kolonieen die Wetzstein- oder Linsenform anzunehmen. Diese Form kann man auch an Gasblasen in Gelatine, namentlich in Stichkulturen beobachten. Linsenförmige Hohlräume entstehen sehr häufig bei der Bildung von Gasen in zuckerhaltigem Agar infolge von chemischen oder biologischen Vorgängen.

Wenn die Kolonieen sehr tief liegen und das Wachstum kräftig ist, bekommt man in einzelnen Fällen Gebilde, welche wie 2 oder 3 durcheinander gewachsene Kolonieen aussehen. Dies tritt ein, wenn sich das Nährsubstrat in den ersten Stadien des Wachstums spaltet, und wenn dann nach einiger Zeit in einer zweiten Richtung nochmals eine Spaltung, entweder senkrecht zur Längsachse der alten Kolonie oder in einer schrägen Richtung erfolgt, wie es die Fig. 1 No. 6a zeigt. Solche Kolonieen können auch durch Zusammenwachsen von zwei kleineren Kolonieen entstehen. Nur wenn das Wachstum kräftig oder der innere Druck groß ist, entstehen solche Kolonietypen.

Regelmäßig dreilappige Kolonieen fand ich mehrmals bei Sarcina flava; auch die Organismen des umgeschlagenen Weins zeigen nach Mazé und Pacottet (36) dieses merkwürdige Bild.

Diese Formen sind es wahrscheinlich, die Jendrassik (6) die Tri- und Hexaphyllonkolonieen genannt hat. Jendrassik führt ihre Bildung auf polare Eigenschaften der Bakterien zurück. Nach meiner Meinung werden sie mehr durch die Eigenschaften des Agars veranlaßt und dafür spricht auch die Angabe Jendrassiks, daß diese Kolonieformen besonders leicht in Medien entstehen, die Zucker oder ameisensaures Natrium enthalten, und in denen durch Gasbildung ein höherer innerer Druck auftritt.

Hin und wieder kommen Kolonieen mit einem dunkleren Zentrum oder mit dunklen parallel zum Rande laufenden Linien vor (s. Fig. 1, No. 5 u. 6). Diese Erscheinung, die z. B. sehr deutlich an Kolonieen von Bac. prodigiosus zu sehen ist, beruht sehr wahrscheinlich hauptsächlich auf dem täglich abwechselnden Einfluß von Licht und Wärme, wie ich später noch zeigen werde.

Sehr regelmäßig und schön bilden sich tiefliegende Kolonieen jener Organismen aus, die bei ihrem Wachstum einen allmählich steigenden Druck auf das umgebende Medium ausüben, wie es z. B. bei schleimbildenden Organismen, bei Leuconostoc und Micrococcus a Schöne der Fall ist. Solche Kolonieen sind ganz durchsichtig und haben genau die Form einer bikonvexen oder konkavkonvexen Linse.

Ich habe diese vollkommene Linsenform stets nur in den Fällen bemerkt, in denen ein höherer, allmählich sich steigernder Druck auftrat. An Gasblasen oder beim Wachstum gewöhnlicher Kolonieen tritt sie nie so vollkommen auf.

Wenn auch die angeführten Umstände zur Erklärung der meisten Formen der tiefliegenden Kolonieen ausreichen, so lassen sich doch nicht alle Fälle daraus erklären, namentlich nicht die Kolonieen von Bact. lactis acidi und Bac. mesentericus fuscus.

Die Kolonieen von Bact. lactis acidi sind nämlich in Agar immer eiförmig oder kugelig und die von Bac. mesentericus fuscus unregelmäßig haarig oder borstig ohne scharf begrenzten Zentralkörper. Auch die Kolonieen derjenigen Organismen, bei denen Spitzenwachstum

am stärksten ausgeprägt wird, z. B. der Kahmhefen- und Schimmelpilze, zeigen ganz eigenartige Formen. Hier wachsen die mycelartigen Hefezellen resp. das Mycel der Schimmelpilze durch das Nährmedium nach allen Richtungen. Dabei treten zwei verschiedene Kräfte in Wirkung: die eine entsteht durch das gleichmäßige Wachstum aller Teile eines Bakterienfadens und verursacht dessen Biegen und Gleiten; die andere entsteht durch das Spitzenwachstum und äußert sich in der Durchbohrung des Nährbodens mit den dünnen Mycelspitzen der Schimmelpilze und Kahmhefen. Die erste Kraft ist typisch für Bakterien jeder Art, die letztere für Mycelbildner. Ob sich das Wachstum der Mycelfäden nach allen Richtungen den physikalischen Eigenschaften des Agars anpaßt, so daß ein Spalten des Agars nicht eintritt, ist schwer zu sagen, aber es ist sehr wahrscheinlich.

Versuche, das Wachstum einer tiefliegenden Kolonie aus einer einzelnen Zelle beobachtend zu verfolgen, sind mir nicht geglückt.

2. Uebergangswachstum von tiefliegenden zu Oberflächenkolonieen.

Die tiefliegenden Kolonieen der Mikroorganismen wachsen oft durch das Substrat hindurch zu der Oberfläche empor.

Je nach der Art des Wachstums und des Nährsubstrats variiert auch das Auswachsen der tiefliegenden Kolonieen. In einigen Fällen scheinen die tiefliegenden Kolonieen gar nicht auszuwachsen, sondern wegen ihrer schwachen Vermehrungskraft oder ihrer geringen Ansprüche an Sauerstoff immer unter der Oberfläche zu bleiben. Sehr wahrscheinlich verhindert auch der Wassermangel durch Austrocknen der oberen Schicht des Nährbodens das Auswachsen bei langsam wachsenden Organismen.

Sehr verschiedenartige und schwer zu erklärende Erscheinungen beobachtet man beim Auswachsen von Kolonieen in gelatinehaltigen Nährmedien. Ob einzelne Zellen ohne weiteres durch die Gelatine schwimmen können, oder ob diese zuerst teilweise verflüssigt werden muß, ist schwer durch mikroskopische Beobachtungen zu entscheiden. Wahrscheinlich ist das letztere häufig der Fall.

Es kann auch vorkommen, daß durch zufällig eintretende vorübergehende Verflüssigung der Gelatine (zu hohe Temperatur) einzelne Bakterien die Möglichkeit erlangen, auf gewisse Entfernung von der Kolonie wegzuschwimmen und dann nach dem Wiedererstarren der Gelatine zu Tochterkolonieen heranwachsen, die durch weiteres Wachstum zur Oberfläche gelangen. Wer viel mit Gelatine gearbeitet hat, weiß, daß hin und wieder solche Fälle vorkommen.

Viel leichter zu verstehen ist das Wachstum in Agarmedien, aber auch hier treten beim Auswachsen verschiedener Schizomyceten oder Saccharomyceten verschiedene Erscheinungen auf.

Die tiefliegenden Kolonieen der Kokken sind am regelmäßigsten gestaltet, und da der Druck, der durch das Wachstum dieser Organismen entsteht, wie es scheint nach allen Richtungen annähernd gleich ist, so tritt bei ihnen das Auswachsen zur Oberfläche nur selten ein. Nur wenn die eingeschlossene Kolonie der Oberfläche naheliegt, erreicht sie bei weiterem Wachstum der ursprünglichen Kugel-, Linsen- oder Wetzsteinform die Oberfläche. Zuweilen geschieht dies dadurch, daß sich eine sekundäre Kolonie senkrecht über der alten Kolonie bildet, doch ist dies verhältnismäßig selten.

Leichter als für Kokkenkolonieen ist das Auswachsen für Bacillenkolonieen zu erklären. Hier werden durch Druck des umgebenden Mediums auf das Innere der Kolonie die Zellen teilweise in eine zur äußeren Wand der Kolonie senkrechte Lage gebracht und können dann durch Spitzenwachstum die Oberfläche des Mediums erreichen.

Fig. 1 Taf. I ist eine Mikrophotographie eines Schnittes durch eine tiefliegende Kolonie von Bacillus lactis albus. Man sieht hier deutlich, wie am Ende der Kolonie die Fäden gebogen, aber nicht gebrochen sind und wie sie in der Mitte senkrecht zur Oberfläche der Kolonie gestellt wurden und dann zur Oberfläche weiter wachsen.

Bei Hefen vollzieht sich das Auswachsen entweder durch Wachstum der tiefliegenden Kolonie bis zur Oberfläche ohne Aenderung der Form, wie z. B. bei untergärigen Hefen, der Carlsberg-Hefe, Frohberg-Hefe, Saaz- u. s. w. Hefe, oder durch mycelartige Zellen, die sich auf allen Seiten der Kolonie bilden und zur Oberfläche ausstrecken, wie bei Kahmhefe etc.

Unter besonderen Umständen ließe sich auch denken, daß die Bakterien der tiefliegenden Kolonie durch den Agar schwimmen und auf diese Weise an die Oberfläche gelangen. Daß eine solche Bewegung vorkommt, konnte ich durch einen sehr einfachen Versuch beweisen. In ein steriles Reagenzrohr mit Wattebausch führte ich einige Tropfen Agar ein. Dieser wurde nach dem Abkühlen in der Mitte durch einen Impfstich infiziert und mit flüssigem Agar von 40° übergossen. Sobald dieser Agar erstarrt war, wurde ganz heißer Agar zugegossen, und auf diesen nochmals heißer Agar, so daß zwischen Impfstelle und Oberfläche drei sterile Agarschichten lagen. Nach einigen Tagen konnte man bereits an der Oberfläche Wachstum bemerken. Hieraus muß man schließen, daß an der Grenze, zwischen Agar und Glas, vielleicht auch zwischen den einzelnen Agarschichten eine Flüssigkeitsschicht vorhanden ist, in welcher sich die Bakterien nach oben bewegen konnten. Aber auch im Innern der Agarmasse, namentlich in der Nähe der Oberfläche, entstanden bei Verwendung von Bacillus prodigiosus, B. nobilis und anderen, große Kolonieen in beträchtlicher Anzahl, woraus folgt, daß diese Bakterien im stande sind, sich durch 1,5-proz. Agar zu bewegen. In der 4. Schicht einer derartig angelegten Kultur von B. prodigiosus war die Wachstumsform einer Wasserhose ähnlich (Fig. 2).

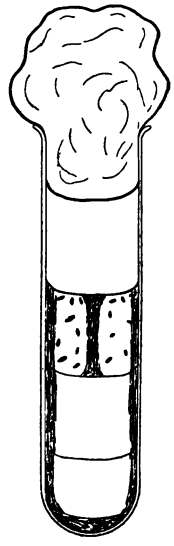


Fig. 2.

3. Die Bildung von Oberflächenkolonieen.

Fast alle Bakterien und Hefen haben die Eigenschaft, auf festen Nährböden scharf umrandete, typische, mehr oder weniger rundliche Kolonieen zu bilden.

Dies ist leicht erklärlich bei denjenigen Organismen, die sich nach allen drei Richtungen teilen können (Sarcina, Saccharomyces, Micrococcus). Auffällig ist diese Erscheinung dagegen bei denjenigen Bakterien, die sich nur nach einer oder nach zwei Dimensionen teilen, und diese Arten sind der Zahl nach bei weitem überwiegend. Man

sollte vermuten, daß ein einzelner Bacillus oder Streptococcus, auf einen festen Nährboden gebracht, seine Tochterzellen in langen Fäden oder in verästelten Gebilden, ähnlich den Mycelfäden eines Schimmelpilzes, über den ganzen Nährboden aussendete, indem ein Stäbchen aus dem anderen hervorgeht, und jedes einzelne durch seine Stoffwechselprodukte den Nährboden für das Nachbarindividuum verschlechtert und eine negative Chemotaxis verursacht.

Die Erfahrung lehrt das Gegenteil. Die Bakterien wachsen in Oberflächenkolonieen, auch wenn sie sich nur nach einer Richtung teilen können, doch gleichmäßig stets nach zwei Richtungen.

Es müssen also andere Faktoren als die Art der Vermehrung bei der Koloniebildung eine maßgebende Rolle spielen, und Zweck dieses Teils meiner Arbeit ist, sie nachzuweisen und ihren formgestaltenden Einfluß klarzulegen.

Eine Oberflächenkolonie kann auf zweierlei Weise entstehen: entweder

1) durch das Wachstum einer tiefliegenden Kolonie zur Oberfläche, in welchem Falle sie das Produkt einer größeren Menge von Zellen ist, oder

2) durch die Vermehrung einer einfachen Zelle, die sich auf der Oberfläche des Nährbodens befindet.

Im ersten Falle ist es schwierig, das Wachstum der Kolonie von den jüngsten Stadien an zu verfolgen, wegen der großen Zahl der Zellen, die zur Oberfläche gelangen. Wie groß die Anzahl dieser Zellen sein kann, zeigt Fig. 1 Taf. I sehr deutlich, welche die Entstehung einer Oberflächenkolonie aus einer tiefliegenden darstellt.

In dem zweiten Falle kann man zwei Perioden des Wachstums unterscheiden, die allerdings nicht scharf voneinander zu trennen sind: 1) das Auswachsen einer einfachen Zelle zu einer mikroskopisch kleinen Kolonie, wobei das Wachstum jeder Zelle beobachtet werden kann, und 2) das Auswachsen einer solchen kleinen Kolonie zu einer sogenannten Riesenkolonie. Hierbei machen sich die verschiedenen physikalischen und biologischen Einflüsse bemerklich und rufen mancherlei Veränderungen in Form und Bau der Kolonie hervor.

a) Das Wachstum einer Kolonie aus einer einfachen Zelle.

Die Entwickelung einer jungen Kolonie aus der Zelle ist bisher nur an fadenbildenden Bakterien, an Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac. lactis albus und Streptococcus, studiert worden.

Im großen und ganzen traten dabei die gleichen Erscheinungen auf. Die Figurenserie 3 gibt Bilder der Entwickelung von Bac. lactis albus auf der Agaroberfläche bei 35°, die ich mit dem Zeichenapparate hergestellt habe. Die betreffende Kultur erhielt ich in der Weise, daß ich die Agarschicht einer Petri-Schale eines Abends mit Bouillon, welche ganz wenige Impffäden enthielt, betupfte. Bei Zimmerwärme war bis zum nächsten Morgen nichts gewachsen. Bei 33—36° stellte sich jedoch bald ein sehr lebhaftes Wachstum ein, wie die beistehenden Figuren zeigen.

Der Impffaden wuchs zuerst nur in der Mitte; die beiden Enden liegen fest und können, wie es scheint, auf der Oberfläche nicht gleiten. Da sich der Faden trotzdem verlängerte, so muß er sich biegen, wie sich

ein Draht beim Erhitzen biegt, wenn er an beiden Enden festgeklemmt ist. Nach 1 Stunde ist die Durchbiegung schon ziemlich fortgeschritten; und nun beginnt auch das obere Ende sich zu verlängern.

Der Faden bleibt bei den Punkten *A* und *B* infolge irgend eines nicht erkennbaren Hindernisses festliegen, so daß diese Punkte in allen Zeichnungen als feste Punkte wiederzufinden sind.

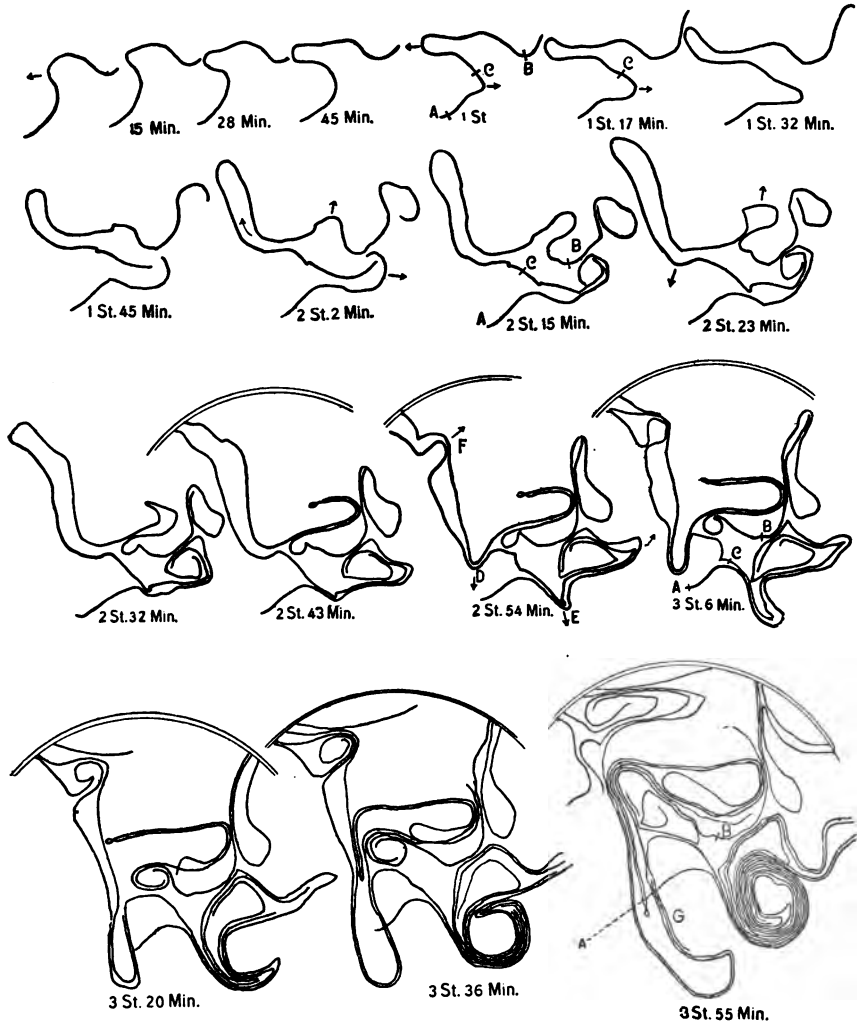


Fig. 3.

Zugleich fängt jetzt auch das Stück *C*—*A* an, sich auszudehnen, und da *A* und *C* festliegen, so erfolgt hier eine Durchbiegung des Fadens nach rechts; *C* läßt sich ebenfalls als fester Punkt in allen Zeichnungen wiedererkennen.

Dieses Spiel wiederholt sich bei jedem Faden, sobald er etwas länger ausgewachsen ist und auf irgend einen Widerstand stößt.

Der höchste Teil oder der „Kopf“ der Durchbiegung wird also auf der Agaroberfläche fortgeschoben und bestreicht auf diese Weise oft ziemlich große Flächen. Trifft solch eine Durchbiegung bei ihrem Wachstum auf einen anderen Faden, so wird dieser mit fortgeschoben (vergl. 2 Std. 54 Min. bei *D*, *E*, *F*). Aber nicht nur einzelne Fäden, sondern ganze Fadenbündel können so fortgeschoben werden (z. B. 3 Std. 55 Min.).

Das Durchbiegen und Fortschieben der Bakterienfäden nach allen Seiten ist wohl eine der Hauptursachen für die stets mehr oder weniger rundliche Form der Kolonieen.

Ein zweiter Grund hierfür ist der, daß Fäden, welche weit aus der Kolonie herauswachsen, in einer gewissen Entfernung von derselben sich plötzlich krümmen und dann entweder, an dem Ausgangsfaden entlang gleitend, zur Kolonie zurückwachsen oder, wenn die Krümmung stärker war, eine Spirale bilden, wie dies das obere Ende des ursprünglichen Fadens nach 2 Stunden zeigt.

Die ganze Kolonie, wie sie z. B. nach 4 Stunden gezeichnet ist, besteht nicht mehr aus einem zusammenhängenden Faden, sondern aus mehreren Teilen. Der Grund des Brechens oder der Teilung der Fäden ist nicht immer zu erkennen. Oft bricht der Faden bei einer starken Krümmung (z. B. 1 Std. 45 Min., 2 Std. 54 Min. links) jedoch tritt es nicht immer ein (siehe die dicke Spirale nach 4 Stunden). Auch ein gerader Faden kann sich ohne ersichtlichen Grund teilen (3 Std. 55 Min. bei *G*). Endlich kann ein Faden auch reißen, wenn er durch die Ausbiegung eines anderen fortgeschoben wird und sein Wachstum mit der Schnelligkeit der Bewegung nicht Schritt hält. Gotschlich äußert sich über das Wachstum der fadenartigen Mikroorganismen wie folgt: „Sehr merkwürdig sind die bei einzelnen Arten, zuerst bei Proteus, von Hauser beobachteten versprengten kleinen Kolonieen, die massenhaft um eine größere geschart liegen, und zwar in einer zentrischen Anordnung, die ihren Ursprung von jener unzweifelhaft dartut; dieselben entstehen durch Ausschwärmen eines Bakterienfadens in die Umgebung, wobei vielleicht eine chemotaktische Anlockung durch die noch unberührten Nährstoffe in der Nähe der Kolonie mitwirken mag; unter günstige Nahrungsbedingungen gelangt, bilden diese Schwärmer eine neue Tochterkolonie, die scheinbar unabhängig von der ursprünglichen erscheint, oft aber noch durch dünne Fäden mit ihr verknüpft ist.“

Die allmähliche Abrundung der Kolonie kommt wahrscheinlich hauptsächlich dadurch zu stande, daß Unebenheiten der Nährbodenoberfläche den sich streckenden Faden am geraden Wachstum verhindern und eine Biegung des Fadens und dadurch eine Aenderung der Wachstumsrichtung bewirken. Auch scheint nach Ward wohl eine Art Tigmotaxis vorhanden zu sein. Diese Anschauung fand freilich durch meine Versuche keine Bestätigung. Das Auftreten von Spiralen dürfte vielleicht dieselbe Ursache haben.

Ebenso wie bei Bacillen scheint das Wachstum von Streptokokken durch Unregelmäßigkeiten der Nährbodenoberfläche stark beeinflußt zu werden. Infolge der Biegung der Streptokokkenketten ändert sich die Wachstumsrichtung in der Art, daß die Kolonie kreisrund wird. Figurenserie 4 zeigt die große Aehnlichkeit in der Bildung von Kolonieen beim Wachstum der Streptokokken und dem der Bacillen.

Da die Streptokokkenfäden leicht in kleine Teile zerfallen, kommt die Ausschwärmung ganzer Ketten gar nicht vor.

Bei den nichtfadenbildenden Bakterien erfolgt das Wachstum der Kolonieen in ähnlicher Weise; nur werden hier die Zellen, die sich bei der Vermehrung gegenseitig drängen und schieben, nicht lange im Zellverbande bleiben, sondern sich lostrennen, dicht gedrängt um das Keimzentrum liegen und so eine runde Kolonie bilden. Die Abrundung wird wegen des losen Zellverbandes rascher erfolgen, als bei fadenbildenden Bakterien und Ausläufer werden nicht vorkommen.

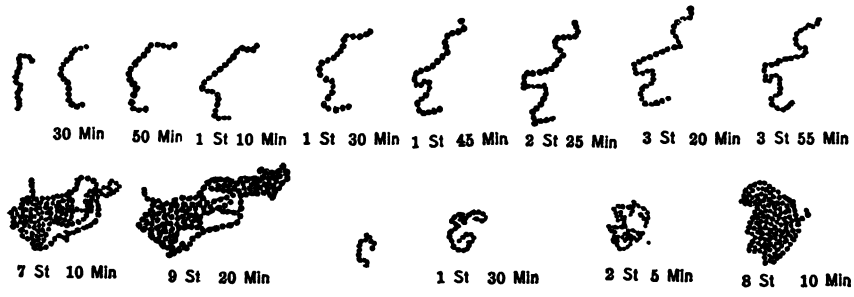


Fig. 4.

b) Das weitere Wachstum der Oberflächenkolonieen.

Die Beobachtungen des Anfangswachstums einer Kolonie lassen sich natürlich nur mit dem Mikroskop verfolgen und sind hauptsächlich darauf gerichtet, die relative Lage der einzelnen Zellen zueinander nach einer oder mehreren Richtungen des Raumes zu erkennen. Das zweite Stadium ist das Wachstum dieser mikroskopisch kleinen Kolonieen zu sogenannten Riesenkolonieen, welche sich oft durch scharf hervortretende Unterschiede auszeichnen. Fast alle Organismen haben die Eigenschaft, scharf begrenzte, entweder symmetrische, linsenförmige, ovale, kugelförmige, oder asymmetrische (unregelmäßig baum- oder blumenähnliche) Kolonieen zu bilden. Die Unterschiede in den Formen, die Konstanz einiger Formen und die Veränderlichkeit anderer, veranlaßten mich, die Einflüsse, welche diese Konstanz resp. Veränderlichkeit bedingen, näher zu untersuchen.

Da die Beobachtungen zuweilen längere Zeit in Anspruch nahmen, schien es mir vorteilhafter, mit agarhaltigen Nährmedien zu arbeiten, anstatt mit Gelatine, deren Verflüssigung möglicherweise schon nach wenigen Tagen die Beobachtungen stören konnte.

Viele Bakteriologen sind der Ansicht, daß, abgesehen von der Möglichkeit der Verflüssigung, auch manche Unterschiede in Form und Aussehen der Kolonieen auf Gelatine deutlicher zum Ausdruck kommen, als auf Agar.

Ich habe aber trotzdem aus dem oben erwähnten Grund Agarmedien benutzt.

Wenn wir von den im 1. Teil dieser Arbeit erwähnten, etwas phantastischen Ansichten Mündens über die Organisation der Bakterienkolonieen absehen und die Kolonieen als eine Ansammlung einfacher Zellen betrachten, so muß sich bald die Ueberzeugung aufdrängen, daß die Bildung der Formen der Kolonieen von einer großen Anzahl verschiedener Faktoren abhängt.

Die verschiedene Lebensenergie der einzelnen Bakterien derselben

Art in verschiedenen Teilen einer Kolonie, die Erzeugung von Bakterienschleim und die chemischen, physikalischen und physiologischen Bedingungen müssen einen bedeutenden Einfluß auf die endgültige Gestalt einer Kolonie ausüben.

Im folgenden möchte ich einige dieser Bedingungen und ihren Einfluß auf die Kolonieform näher betrachten. Lassen sich auch manche dieser Einflüsse jetzt noch nicht erklären, so sollen sie doch hier nicht unerwähnt bleiben.

4. Die Bildung von Schleim in den Kolonieen.

Die Bildung von Schleimsubstanzen durch die Mikroorganismen wechselt von Species zu Species und auch nach den Ernährungsverhältnissen der Organismen.

Bekanntlich hängt die Schleimproduktion bei einigen Organismen von der Gegenwart löslicher Kohlehyrate im Nährmedium ab, und wächst mit der Menge der vorhandenen löslichen Kohlehydrate. Der Einfluß des Schleims auf die Kolonieform ist am deutlichsten in Kolonieen von Leuconostoc und den schleimbildenden Kokken zu sehen. Die Kolonieen dieser Organismen zeigen eine fast kugelige Gestalt.

Vielleicht wird auch die Form der Hefekolonieen durch die Schleimbildung beeinflußt.

Bei ihnen tritt der zuerst von Emil Chr. Hansen (8) beobachtete und als gelatinöses Netzwerk bezeichnete Schleim sehr häufig nach Will (9) an den Zellen von Hautbildungen sowie von älteren Riesenkolonieen auf. Nach ihm ist die Entwickelung eines gelatinösen Netzwerkes besonders in den zentralen Partieen von Riesenkolonieen in ausgedehntem Maße zu beobachten. Ich habe mehrmals Kolonieen gesehen, die ein solches Netzwerk in allen ihren Teilen, ob jung oder alt, sehr deutlich zeigten. Die größten Mengen von Schleim fand ich in einer Kolonie von Kahmhefe.

Höchst wahrscheinlich spielt diese Verschleimung der Zellen eine bedeutende Rolle bei der Bildung jener Kolonieformen, die sich relativ hoch über die Oberfläche des Nährmediums erheben, deren Höhe etwa 2 oder 3mal so groß ist wie ihre Breite (Höhe 3 mm, Breite 1—$1^1/_2$ mm).

Da ich solche Formen nur einmal bei einer Hefe sah, war es mir nicht möglich, sie näher zu studieren.

Nach Wilde kommen auch beim Friedländerschen Pneumoniebacillus Unterschiede in der Stärke der Schleimbildung vor, durch welche die Kolonieform beeinflußt wird. Außer den gewöhnlichen runderhabenen Kolonieen findet man zuweilen solche, die flach, granuliert und zackig umrandet sind und von Spielarten herrühren, die wenig oder gar keinen Schleim absondern.

Es würde interessant sein, die Bedingungen der Schleimbildung genauer zu studieren und ihren Einfluß auf die Kolonieform nachzuweisen.

5. Lebensenergie der Organismen in den Kolonieen.

Höchst wahrscheinlich ist die Lebensenergie der Mikroorganismen in verschiedenen Teilen der Kolonieen sehr verschieden. Nach den Untersuchungen von Ficker (10) ist der größte Teil der Bakterien in einer Kolonie schon nach 3—4 Tagen abgestorben oder doch sehr geschwächt, infolge davon, daß sich die Lebensbedingungen ungünstig gestaltet haben, sei es durch eingetretenen Abschluß oder den ermöglichten

Zutritt von Sauerstoff, sei es, daß es im Substrat an Nährstoffen mangelte, oder daß sich schädliche Stoffwechselprodukte ansammelten.

In einem späteren Teil der Arbeit werde ich auf diese Einflüsse und auf die Wirkung, welche sie auf die individuellen Zellformen äußern, auf die sogenannten Involutionsformen, zurückkommen.

Wahrscheinlich ist es eine Folge dieser Einflüsse, daß das Wachstum in den älteren Teilen einer Kolonie nicht mehr so stark ist, wie an den Rändern, wo die Zellen noch günstigere Ernährungsbedingungen vorfinden und kräftig fortwachsen können. Infolge dieses ungleichen Wachstums gewinnt die Kolonie, wenn sich die übrigen Bedingungen nicht ändern, eine flache, kreisrunde oder scheibenartige Form.

Zuweilen hört aus unbekannten Ursachen das Wachstum an einzelnen Stellen des Kolonierandes auf, während es in den übrigen Teilen ungestört fortdauert. Es nimmt dann die Kolonie eine unregelmäßige Gestalt an; Fig. 1 bringt ein Beispiel.

Ob das Vorkommen kleiner Flecken (vgl. Fig. 3, Taf. I Bac. subtilis-Kolonie) in den Kolonieen einiger Bakterien, ebenfalls auf Veränderungen der Ernährungsbedingungen zurückzuführen sei, lassen meine Untersuchungen nicht erkennen.

Preisz (37) mag vielleicht Recht haben, wenn er solche Flecken als sekundäre resp. tertiäre Kolonieen betrachtet. Die sekundären Kolonieen entstehen durch Auskeimung und neues Wachstum von Sporen; es sind Kolonieen, die auf dem primären Rasen aus Sporen desselben hervorgegangen sind, Kolonieen 3. Generation entstehen dann weiter aus den Sporen der zweiten.

Die pyramiden- oder urnenförmigen Teile, die man häufig an Kolonieen von Hefen beobachtet, sind wahrscheinlich die Folge biologischer Verschiedenheiten der Zellen in verschiedenen Teilen der Kolonieen (vergl. Abbild. 49, Taf. III, Lindners Betriebskontrolle).

Häufig findet man an solchen Bildungen rhizoidartige Anhänge und diese verhalten sich indifferent gegen das Licht (s. weiter unten).

Ich konnte dies an Kolonieen von Saccharomyces cerevisiae Lindner 86 beobachten, deren größter Teil konzentrische Ringe zeigte und ein stark ausgebildetes Mycel besaß, während die dickeren Kreisausschnitte keine Ringe und kein oder nur ein geringes Mycel gebildet hatten. Hier haben wir es mit einer individuellen Differenzierung der Zellen zu tun, mit Erscheinungen, welche nicht mit denjenigen verwechselt werden dürfen, die infolge von Oberflächenspannung entstehen.

6. Einfluß der Beweglichkeit auf die Kolonieenform.

Bei meinen zahlreichen genauen Beobachtungen konnte ich viele Fälle von Beweglichkeit der Mikroorganismen auf festem Nährboden feststellen.

Daß Organismen sich auf der Oberfläche von Gelatine bewegen, die sich leicht partiell verflüssigen, hat nichts Auffälliges. Dagegen ist es merkwürdig, daß auch auf Agar eine Bewegung stattfindet, was ich bei vielen beweglichen Bakterien in den ersten Tagen der Koloniebildung konstatieren konnte. Meistens bestand diese Bewegung nur in einem Hin- und Herpendeln, öfters aber schwammen auch die Bakterien weit von der Kolonie fort und wuchsen zu einer neuen Kolonie aus.

Diese Bewegung muß selbstverständlich einen gewissen Einfluß auf die Form und das Aussehen der Kolonieen ausüben, und es schien mir

daher wünschenswert, die Bedingungen, durch die eine solche Bewegung ermöglicht wird, näher zu studieren.

Wenn Bakterien auf Agar aus einer Kolonie auswandern sollen, so muß in der nächsten Umgebung der Kolonie Wasser vorhanden sein. Je größer die vorhandene Wassermenge ist und je langsamer der Agar austrocknet, um so deutlicher wird der Einfluß der Beweglichkeit der Bakterien auf die Gestalt der Kolonie hervortreten.

Die Umstände, die zur Ansammlung von Wasser auf der Oberfläche des Agars führen können, schienen mir folgende zu sein:

1) Kondensation von Wasserdampf der umgebenden Luft auf der Oberfläche des Nährmediums;

2) Ausscheidung von Wasser durch Zusammenziehung des Agars;

3) Fähigkeit der Bakterienkolonieen, Wasser aus dem umgebenden Medium anzuziehen.

In Bezug auf die Kondensation von Wasser bei schrägen Agarkulturen sagt Günther (11): „Beim Erstarren preßt der Nähragar Wasser aus, welches sich später, nachdem man die Röhrchen vertikal hingestellt hat, in den abhängigen Teilen derselben ansammelt. Dieses Kondenswasser verdunstet bei längerer Aufbewahrung der Agarröhrchen allmählich. Sein Verschwinden zeigt uns an, daß der Nährboden nicht mehr die für Kulturzwecke wünschenswerte Feuchtigkeit besitzt; denn nur solange das Kondenswasser vorhanden ist, befindet sich die Oberfläche des Nährbodens dauernd in einer feuchten Atmosphäre."

Demnach scheint Günther das Austreten von Wasser aus dem Agar durch Zusammenziehung und die Kondensation des Wassers gar nicht zu unterscheiden, während sie meiner Meinung nach auseinander gehalten werden sollten.

Um zu bestimmen, ob Kondensation in einem solchen Maße stattfände, daß dadurch Bewegung der Organismen ermöglicht würde, oder ob der Nähragar hygroskopische Eigenschaften besäße, d. h. Wasser aus wassergesättigter Luft zu absorbieren im stande wäre, und um die Verhältnisse verschiedener Konzentrationen des Agars näher kennen zu lernen, machte ich folgende Versuche:

Drei gutschließende Petri-Schalen wurden mit ungefähr 10 ccm Fleischwasser-Peptonagar beschickt, nach dem Erkalten gewogen und dann verschiedenen Einflüssen ausgesetzt:

Agarplatte A blieb geschlossen im Laboratorium stehen;

Agarplatte B wurde ohne Deckel in einer grossen, feuchten Kammer und die

Agarplatte C, ebenfalls ohne Deckel, frei im Laboratorium aufgestellt.

Von Zeit zu Zeit wurden die Platten gewogen, was jedesmal für eine Platte etwa 10 Sekunden Zeit erforderte; der Verlust, der in dieser Zeit durch Verdunsten von Wasser stattfand, wurde durch Kontrollversuche ermittelt und entsprechend berücksichtigt.

Die Ergebnisse sind in der beigegebenen Tabelle übersichtlich zusammengestellt. Man kann daraus folgendes ersehen: Die Platten A und B erlitten einen Verlust an Wasser, der mit der Zeit wuchs und selbstverständlich bei Platte A am größten war. Die kleine Gewichtszunahme, welche in einigen Fällen die Platte B erfuhr, kann nur durch unvermeidliche geringe Temperaturschwankung erklärt werden.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Verlust der Agarplatten an Wasser.

	A. Petri-Schale, geschlossen				B. Petri-Schale, offen (in wassergesättigtem Raum)			C. Petri-Schale, offen (an der Luft)	
	Nach 6 Std. Proz.	Nach 24 Std. Proz.	Nach 2 Tag. Proz.	Nach 9 Tag. Proz.	Nach 6 Std. Proz.	Nach 24 Std. Proz.	Nach 2 Tagen Proz.	Nach 6 Std. Proz.	Nach 24 Std. Proz.
0,75 Proz. Agar	2,0	9,0	19,7	69,9	1,52	1,82	1,76	47,2	90,7
1,0 „ „	1,6	5,3	15,4	58,7	1,80	1,86	—	39,2	88,7
1,5 „ „	—	—	—	—	1,70	1,52	1,36	32,5	76,1
2,0 „ „	1,1	6,2	14,3	55,3	1,03	**1,01**	**0,91**	19,1	78,8
3,0 „ „	2,0	8,3	18,1	66,2	1,21	1,51	**1,37**	19,75	77,7
5,0 „ „	—	—	—	—	1,08	1,80	2,44	26,5	85,4

Eine etwaige Kondensation von Wasser auf Plattenkulturen, die in einem mit Wasserdampf gesättigten Raum stehen, kann nur vorkommen, wenn die Temperatur zurückgeht und dies ist beim Experimentieren manchmal kaum zu vermeiden.

Wenn infolge der täglichen Temperaturschwankungen der umgebenden Luft innerhalb einer bedeckten Petri-Schale Niederschläge von Feuchtigkeit auf den Nährboden stattfinden, so kann der hiermit verbundene Wechsel in der Feuchtigkeit sehr wohl Unregelmäßigkeit im Heranwachsen der Kolonie veranlassen.

An Agarplattenkulturen kann man sehr häufig wahrnehmen, daß Wasser aus ihnen in Form größerer oder kleinerer Tropfen austritt. Wahrscheinlich ist dies eine Folge der Zusammenziehung des Agars, die bei der Abkühlung stattfindet.

Günther (11a) schreibt hierüber: „Häufig erlebt man es, namentlich ist das bei Schälchenkulturen der Fall, daß nach 24 Stunden die gesamte Oberfläche der Agarschicht sich mit einer gleichmäßigen Bakterienwucherung bedeckt zeigt. Es handelt sich hier um die Eigentümlichkeit des Agars, beim Erstarren Wasser auszupressen; die Oberfläche überzieht sich mit einer Schicht derartigen ‚Kondenswassers' und diese Wasserschicht wird dann sehr leicht zu einem Vermehrungsort von Bakterien."

Wie die angefügte Tabelle zeigt (A und C), schwankt der Verlust der Platten an Wasser sehr stark mit der Konzentration des Agars und ist am kleinsten bei 2-proz. Agar. In dem Maße, in dem die Konzentration des Agars zunimmt, wächst auch die Menge des ausgepreßten Wassers, welches dann leicht verdunstet.

Bei weniger konzentriertem Agar bildet das Wasser eine dünne, über die ganze Oberfläche der Platte ausgebreitete Schicht, wogegen es sich aus konzentriertem Agar in Form von Tropfen ausscheidet, zwischen denen der Agar relativ trocken bleibt. Die eben beschriebene Erscheinung ist früher schon beobachtet worden von Koch, v. Freudenreich, Zabolotny u. a.

Bei allen Versuchen, bei denen eine sterile Platte zur Erzielung einer regelmäßigen Kolonie geimpft wurde, blieb die Platte vor dem Impfen längere Zeit stehen, damit die ausgeschiedene Flüssigkeitsschicht vorher verdunsten konnte.

Die Kontraktion des Agars kann also eine Wasseransammlung an der Oberfläche bewirken und dadurch den Bakterien die Möglichkeit

zur Fortbewegung verschaffen; aber auch bei den Platten aus verdünntem Agar, welche durch mehrtägiges Stehen an der Oberfläche getrocknet waren, konnte einige Zeit nach dem Impfen, namentlich nachdem die Kolonie einige Tage alt geworden war, regelmäßige Bewegung beobachtet werden.

Wenn irgendwelche Bakterienkeime in dieses ausgepreßte, an der Oberfläche angesammelte Wasser gelangen, werden sie (wenn sie nicht selber beweglich sind) durch die leisesten Strömungen fortgetragen und über die Oberfläche des Agars verbreitet, bis sie beim Verdunsten des Wassers an irgend einer Stelle zur Ruhe kommen. Durch ihr späteres Auswachsen entstehen sogenannte Tochterkolonieen.

7. Die hygroskopischen Eigenschaften der Bakterienkolonieen.

Die eben besprochene, oft lange andauernde Bewegung von Bakterien auf Agar läßt sich auf eine immer weiter fortschreitende Kontraktion des Agars nur gezwungen zurückführen. Wahrscheinlich ist es, daß die Bakterienkolonieen hygroskopische Eigenschaften besitzen. Diese Meinung ist schon früher von Bremer (12) für Schimmelpilzkolonieen ausgesprochen worden, der sagt: „Das Wachstum der Pilze ist stets mit einem Verlust an organischer Substanz, aber mit einer Zunahme an Wasser, ohne Zweifel infolge von Atmung, verbunden."

Wenn sich die hygroskopische Eigenschaft der Kolonieen einwandsfrei nachweisen ließe, würde eine sehr gute Erklärung für die Herkunft des die Bewegung ermöglichenden Wassers gefunden sein. Ich versuchte den Beweis in folgender Weise zu erbringen: Zwei gleichgroße Fließpapierstreifen (ca. 3,5:10 cm) wurden in besonderer Weise geknickt und in große Petri-Schalen von 15 cm Durchmesser gelegt, wie es folgende Figur im Durchschnitt zeigt.

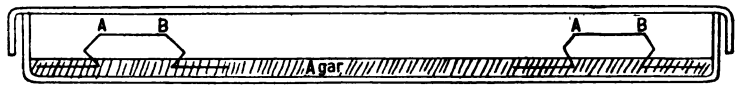


Fig. 5.

Darauf wurde in die sterilisierten Schalen vorsichtig Agar gegossen und dieser nach dem Erstarren nur in der Nähe des einen Streifens geimpft. Nachdem die Kolonie gewachsen war, wurde der aus dem Agar herausragende Teil (A—B) beider Papierstreifen abgeschnitten, gewogen, getrocknet und wieder gewogen.

Da die früheren Versuche gezeigt hatten, daß 1,25-proz. Agar am wenigsten Wasser auspreßt und infolgedessen die regelmäßigsten Kolonieen gibt, wurde Agar dieser Konzentration für diese Versuche angewendet.

Die Kolonieen entwickelten sich nicht alle unter denselben Nebenumständen, da sie entweder im Laboratorium bald frei, bald unter einer großen Glasglocke aufgestellt wurden. Die Temperatur in den verschiedenen Versuchen schwankte, je nachdem die Kulturen im Zimmer bei 18—23° oder im Brutschrank bei 30° aufgestellt waren.

Hygroskopizität der Kolonieen.

Geprüfter Organismus	Alter der Kolonieen	Wassergehalt des Papierstreifens in Proz. des trockenen Streifens berechnet		
		A. Mit Kolonie	B. Ohne Kolonie	Differenz zwischen A u. B
1) Bact. coli	$9^1/_2$ Stunden	110	83	+27
2) „ „	15 „	122	100	+22
3) „ „	?	72	49	+23
4) „ „	24 „	85	58	+27
5) „ „	15 „	129	124	+ 5
6) „ „	15 „	123	117	+ 6
7) „ „	16 „	188	171	+17
8) „ „	16 „	163	157	+ 6
9) „ „	16 „	158	126	+32
10) „ „	18 „	128	131	— 3
11) „ „	20 „	144	144	—
12) „ „	20 „	159	155	+ 4
13) „ „	24 „	158	168	—10
14) „ „	24 „	156	162	— 6
15) „ „	24 „	205	171	+34
16) „ „	24 „	194	166	+32
17) „ „	24 „	192	155	+37
18) Bac. fluoresc. liquefaciens	16 „	189	179	+10
19) „ „ „	16 „	172	161	+11
20) „ „ „	16 „	171	138	+33
21) „ typhi murium	24 „	84	89	— 5
22) „ subtilis	32 „	41	58	—19
23) „ „	34 „	73	80	— 7
24) „ II aus Distel	28 „	41	36	+ 5
25) Oidium lactis	34 „	63	65	— 2

Die Verschiedenheiten, welche die Versuchsreihen 1—4, 21—25 und 5—20 in dem Wassergehalt der Streifen aufweisen, wurden wahrscheinlich durch die Beschaffenheit des Fließpapieres veranlaßt, da das bei den ersten und letzten Versuchen angewendete Papier viel dicker und steifer als das der mittleren Versuche war. Während die Zahlen für die älteren Kolonieen der Annahme, daß Wasseranziehung durch die Kolonieen stattfindet, widersprechen, stimmen die Zahlen für die jungen Kolonieen gut mit der Theorie überein. Man kann sich vorstellen, daß im 1. Wachstumsstadium sehr viel Wasser angesammelt wird, daß das vom Fließpapier aufgesogene Wasser wieder zurück in die Kolonie gelangt und daß sich bei weiterem Wachstum der Wassergehalt des über der Kolonie liegenden Papierstreifens schneller vermindert als der des anderen. Hiernach wäre auch zu verstehen, daß der Kontrollstreifen schließlich wasserreicher werden kann als der erstere.

Wie schon vorhin erwähnt wurde, konnte ich in vielen Fällen eine Bewegung der Bakterien auf festen Nährböden beobachten. Da die Bewegung am stärksten auf den weniger konzentrierten oder wasserreicheren Nährböden war, versuchte ich, den Zusammenhang zwischen Beweglichkeit bezw. Dauer der Beweglichkeit und Konzentration des Nährbodens zu ermitteln.

Verlust der Schalenkulturen an Wasser.
Organismus: Bac. megatherium.

	0,75-proz. Agar						1,0-proz. Agar					
	Mit Kolonie			Ohne Kolonie			Mit Kolonie			Ohne Kolonie		
	Proz. Verlust pro Tag	Proz. Gesamtverlust	Bewegung der Bakterien	Proz. Verlust pro Tag	Proz. Gesamtverlust	Bewegung der Bakterien	Proz. Verlust pro Tag	Proz. Gesamtverlust	Bewegung der Bakterien	Proz. Verlust pro Tag	Proz. Gesamtverlust	Bewegung der Bakterien
Nach 24 Std.	5,32	5,32	+	4,00	4,00	—	5,65	5,65	—	4,32	4,32	—
„ 41 „	3,68	9,00	+	3,33	7,33	—	4,48	10,13	+	3,18	7,50	—
„ 65 „	5,11	14,11	+	3,84	11,17	—	5,55	15,68	+	3,52	11,02	—
„ 89 „	4,64	18,75	+	3,40	14,57	—	5,22	20,90	+	3,71	14,73	—
„ 113 „	3,60	23,35	+	2.00	16,57	—	3,46	24,36	—[2]	2,24	16,97	—
„ 137 „	4,63	26,98	+	2,73	19,30	—	5,10	29,46	—	3,30	20,27	—
„ 166 „	5,74	32,72	+	4,16	23,46	—	6,79	36,25	—	5,36	25,63	—
„ 195 „	5,00	37,72	+	4,68	28,14	—	6,85	43,10	—	5,90	31,53	—
„ 219 „	5,90	43,62	+	3,00	31,14	—	5,00	48,10	—	2,20	33,73	—
„ 243 „	3,42	47,04	—[1]	4,36	35,50	—	4,00	52,10	—	3,42	37,13	—

Die Methode, die ich dabei befolgte, erwies sich als recht brauchbar. Ich bestimmte von 24 zu 24 Stunden das Gewicht der Schalen und untersuchte, ob sich die Bakterien noch bewegten. Als ich keine Bewegung mehr wahrnahm, berechnete ich die Konzentration, welche der Agar bis dahin angenommen hatte.

Die Beweglichkeit scheint bei einer ganz bestimmten, für jeden Organismus spezifischen Konzentration des Agars aufzuhören.

Die vorstehende Tabelle zeigt die Ergebnisse der Versuche. Man erkennt nebenbei, daß auch hier der konzentriertere Agar unter sonst gleichen Umständen mehr Wasser verlor, als der weniger konzentrierte.

Organismus	Dauer der Beweglichkeit	Anfangskonzentration	Endkonzentration
1) Bac. I (aus der Proteus-Gruppe)	11 Tage	0,75 Proz.	1,5 Proz.
2) „ I	10 „	0,75 „	1,4 „
3) „ I	8 „	1,00 „	1,4 „
4) „ megatherium	11 „	0,75 „	1,3 „
5) „ „	6 „	1,00 „	1,3 „
6) „ subtilis	8 „	1,00 „	1,3 „
7) „ coli	?	1,00 „	1,9 „
8) „ lactis albus	12 „	1,00 „	1,9 „
9) Sp. volutans	19 „	1,00 „	2,0 „
10) Bac. II	16 „	1,00 „	2,2 „

Die Uebereinstimmung bei Parallelversuchen ist in Anbetracht der vielen Fehlerquellen eine sehr gute. Dafür, daß sich auf normalen Agarnährböden alle beweglichen Bakterien tatsächlich bewegen, spricht auch die Form ihrer Strichkulturen. Von ca. 400 verschiedenen Bakterien, die in Migulas „System der Bakterien“ beschrieben sind, zeigen fast

1) Konzentration des Agars: 1,34 Proz.
2) Konzentration des Agars: 1,32 Proz.

alle beweglichen Organismen eine „breite, nicht charakteristische Auflagerung", die unbeweglichen einen „schmalen Streifen".

Von der Bewegung auf der Agaroberfläche ist die Bewegung der Bakterien durch die Agarmasse hindurch wohl prinzipiell verschieden. Ich verweise hier auf die Versuche, die schon oben erwähnt wurden (siehe Fig. 2).

Wie ich schon gezeigt habe, erklärt sich die Anwesenheit von Wasser an der Agaroberfläche in doppelter Weise:

1) dadurch, daß Wasser durch Zusammenziehung des Nährbodens ausgepreßt wird;

2) aus der hygroskopischen Eigenschaft der Bakterienkolonieen.

Es wurde auch schon früher darauf aufmerksam gemacht, daß je nach der Konzentration des Agars das Wasser in verschiedener Form auftritt: nämlich bei verdünntem Agar in gleichmäßiger dünner Schicht und bei konzentriertem Agar in Tropfenform. Man versteht daher leicht, daß sich Bakterien, die in den Bereich des Wassers gelangen, sehr schnell vermehren, und daß sich die Form der Kolonieen der Form der Wasseransammlung anpaßt.

In dieser Weise bestimmt sich im allgemeinen die Form der „Schwimmkolonieen". Man erhält in dem einen Fall eine unregelmäßig geformte und in dem anderen eine kreisrunde Kolonie. Auch nachdem die Kolonie ihre der Verteilung des Wassers entsprechende Form angenommen hat, bewegen sich die Bakterien in den verschiedenen Teilen der Kolonie noch einige Tage lang.

Ob auf die Bewegung die vielverzweigten Formen zurückzuführen sind, wie sie z. B. Fig. 4 und 5, Taf. I zeigen, ist nicht sicher, aber möglich.

Sehr wahrscheinlich sind es noch andere Ursachen, die hier in Betracht kommen, wie Differenzen in der Lebensenergie in verschiedenen Teilen der Kolonieen, Oberflächenspannung und stellenweise Anhäufung von Stoffwechselprodukten in der Kolonie und solche, die oft unregelmäßige Formen mit Ausbuchtungen verursachen.

Wenn verdünnter Agar älter und infolge hiervon konzentrierter wird, treten an den Randpartieen der auf ihm befindlichen Kolonieen kleine radial angeordnete Auswüchse auf, durch welche die Ränder der Kolonie den Rändern einer auf konzentriertem Nährboden gewachsenen Kolonie ähnlich werden.

Zuweilen sieht man an Plattenkulturen und sehr häufig an Strichkulturen in der nächsten Umgebung einer Kolonie eine andere, größere Kolonie oder Anhäufung von Bakterien oder eine große Anzahl kleiner selbständiger Kolonieen, die gar nicht mit der Mutterkolonie verbunden sind. Sie sind vermutlich durch das Fortschwimmen einzelner Bakterienzellen, in einer Wasserschicht und Auswachsen nach dem Verdunsten des Wassers entstanden. Auf Plattenkulturen beweglicher Bakterien findet man alle möglichen Uebergangsformen zwischen Schwimmkolonieen und solchen mit Tochterkolonieen.

Ueber andere Entstehung von Tochterkolonieen vergl. auch Abschnitt 3a und 10.

8. Einfluß der Konzentration des Nährbodens.

Neben den Verschiedenheiten in der Form der Kolonieen, die durch den wechselnden Feuchtigkeitsgehalt der Oberfläche von Agar verschie-

dener Konzentration verursacht werden, gibt es auch andern, die durch Widerstände, die sich dem Wachstum entgegenstellen, bedingt sind.

Je konzentrierter der Nährboden ist, um so stärker werden die Widerstände und um so deutlicher tritt die Wirkung, die sie auf die Form der Kolonieen ausüben, in Erscheinung.

Der Druck, der durch das Substrat dem Auswachsen der Kolonieen entgegengesetzt wird, bewirkt, daß die neugebildeten Organismen sich einigermaßen regelmäßig um die Impfzellen gruppieren, und daß auf konzentrierten Nährböden viel kleinere Kolonieen, als auf weniger konzentrierten entstehen. Fig. 2 und 3, Taf. I werden genügen, um dies zu veranschaulichen. Diese stellen Photographieen von Kolonieen eines dem Bacillus ramosus ähnlichen Organismus auf 1,5-proz. und 4-proz. Agar dar. Wenn auch die Größe der Kolonieen verschieden sind, so ähnelt sich das Aussehen ihrer Ränder, umso mehr je älter sie werden (vgl. Fig. 2 unten und Fig. 3 oben).

In sehr konzentrierten Nährmedien entstehen nach Dunham (13) linsenförmige Kolonieen mit stark gewellter Umrandung; in sehr weicher Gelatine bilden sich knospen- oder wurzelartige Auswüchse an der Oberfläche der Kolonie. In einem sehr weichen Medium bildet sich häufig nicht eine einzige Kolonie, sondern ein dichter Komplex von Kolonieen.

Durch eine doppelte Wahrnehmung wurde die Aufmerksamkeit Dunhams auf den Einfluß der physischen Bedingungen auf das Aussehen der Kolonieen gelenkt. Er fand nämlich folgendes:

„1) Dieselbe Bakterienart, die in verschiedenen Teilen derselben Gelatine gezüchtet wurde, welche aus denselben Ingredienzien bestand und die gleiche Reaktion aufwies, zeigten häufig Kolonieen, deren Aussehen stark voneinander abwich.

2) Bakterien verschiedener Arten bilden oft Kolonieen, die in manchen Gelatinen nicht voneinander zu unterscheiden sind, die aber, wenn in anderen Teilen der Gelatine gezüchtet, leicht als verschieden erkannt werden können."

Die Ursachen dieser Erscheinungen wurden in dem verschiedenen Grade der Steifheit, des Schmelzpunktes, der Durchdringlichkeit und Viskosität der Gelatine vermutet. Daß die ersterwähnte Erscheinung vorkommen kann, habe ich schon gezeigt. Ich führe sie teilweise auf eine ungleichmäßige Verteilung der Feuchtigkeit im Nährboden zurück. Diese und andere anormale Kolonieen, deren Entstehung man sich bis jetzt nicht in befriedigender Weise erklären kann, hat man „atypische Kolonieen" genannt.

Die besonderen Formen der Kolonieen, die durch Unterschiede in der Konzentration des Nährbodens hervorgerufen werden, sind von Rosenthal (14) für diagnostische Zwecke, zur Unterscheidung des Bact. coli von Bact. typhi, benutzt worden.

In der Zusammenfassung der Ergebnisse seiner Arbeit hierüber schreibt er wie folgt:

„I. Verschiedene schon gut bekannte Bakterienarten zeigen bedeutende Veränderlichkeit ihrer Wachstumsformen in Gelatine unter dem Einfluß von zwei Faktoren, der Konsistenz der Gelatine und der Temperatur.

II. Verdünnte (2,5—3,0-proz.) Gelatine verbindet gewissermaßen die Vorzüge fester und flüssiger Nährböden und eignet sich zur Bildung von Wachstumstypen und Verbänden, die man weder in den ersteren

noch in den letzteren so gut beobachten kann. Sie eignet sich vermutlich auch besonders dazu, Wachstums-, Teilungs- und Sporulationsvorgänge bei den Bakterien unter dem Mikroskop zu verfolgen."

Es ist ja leicht zu verstehen, daß durch Schwankungen der Temperatur oder dadurch, daß ein Teil der Gelatine weich zu werden beginnt, sich die Widerstände, die den wachsenden Bakterien entstehen, und damit auch die Formen der Kolonieen ändern. Dadurch, daß die Gelatine erweicht, wird für die Bakterien die Möglichkeit geschaffen, von der Kolonie auszuschwärmen. Wird die Gelatine wieder fest und wachsen die Bakterien dann weiter, so entsteht an der betreffenden Stelle eine von der Mutterkolonie völlig getrennt liegende Tochterkolonie.

9. Einfluß der Oberflächenspannung auf die Kolonieenform.

Ein weiterer Faktor, der einen Einfluß auf die Form der Kolonieen haben kann, ist die Oberflächenspannung.

Je nach dem Gehalt der Kolonieen an Wasser und der Menge des etwa gebildeten Schleims wird die Kolonie einen niedrigen oder höheren Viskositätsgrad besitzen.

Wir müssen hier unterscheiden zwischen der Kohäsion der einzelnen Zellen unter sich und der Adhäsion der Zellen am Nährsubstrat. Ist diese Kohäsion sehr groß, so wird die heranwachsende Kolonie eine kugelähnliche Form gewinnen.

Ist dagegen die Kohäsion gering, so wird sich die Kolonie mehr in horizontaler Richtung ausbreiten und, vielleicht unter der Mitwirkung der Adhäsion zwischen Nährboden und Kolonieteilchen eine Art Scheibenform annehmen. Bei der Ausbildung der scheibenförmigen Kolonieen spielt natürlich auch die Art und Weise des Wachstums der Bakterien eine Rolle.

Wie ich später zeigen werde, ist das Wachstum an den Rändern einer Kolonie viel lebhafter als im Zentrum. Dies hat darin seinen Grund, daß die Wachstumsbedingungen am Rande für die Bakterien viel günstiger sind. Die an den Grenzen der Kolonie liegenden Bakterien streben in ihrem Wachstum nach außen, wo sie Nährstoffe in Menge finden und wo schädliche Stoffwechselprodukte noch gänzlich fehlen. Das Wachstum in der Mitte wird dagegen recht langsam und die Kolonie bekommt dadurch eine flache, scheibenförmige Gestalt.

Es gibt Kolonieen, die ganz den unscharf begrenzten Figuren von Flüssigkeitstropfen gleichen, die sich auf horizontaler Ebene ausbreiten. Aehnlich sind auch die Zooglöen der Myxomyceten gestaltet. Da Flüssigkeitstropfen ihre Gestalt der Kohäsionskraft und der durch diese hervorgerufenen Oberflächenspannung verdanken, so liegt die Vermutung nahe, daß bei der Bildung der Bakterienkolonieen dieselbe Kraft im Spiele ist.

Andere Kolonieen lassen sehr oft deutliche Linien erkennen, die vom Zentrum radial nach außen gerichtet sind; bei diesen Kolonieen ist oft der Umriß der Kolonie lappig. Fig. 4, Taf. I zeigt eine solche Kolonie von Bac. subtilis. Diese Form findet sich bei den Kolonieen vieler Bakterien- und Hefenarten. Andere Kolonieenformen sind dadurch gekennzeichnet, daß sie einen Zentralkörper aufweisen, der relativ klein ist, der aber viele lange radiale Aeste aussendet (vgl. Fig. 5, Taf. I).

Bemerkenswert ist, daß die Form nur bei sehr kleinen, stark be-

weglichen Bakterien, wie Bac. coli, vorkommt. Ob es die lebhafte Bewegung der Bakterien allein ist, welche diese Form bedingt, oder ob vielleicht nebenbei noch der Umstand in Betracht kommt, daß die Kohäsion bei den Kolonieen dieser Bakterienarten sehr schwach ist, muß dahingestellt bleiben.

Die erwähnten radialen Linien kann man an den Kolonieen fast aller Arten von Mikroorganismen wahrnehmen. Sie müssen somit durch Einflüsse hervorgerufen werden, denen alle Organismen unterworfen sind. Worin die hier zum Ausdruck kommenden Unterschiede im Wachstum der Organismen in verschiedenen Teilen der Kolonieen ihren Grund haben, läßt sich ebenfalls nicht sagen.

Ein sehr schönes Beispiel für den Einfluß der Oberflächenspannung auf die Kolonieenform beobachtete Herr Dr. Rahn im hiesigen Laboratorium. Eine Torula-Art von der Oberfläche eines Kirschblattes, welche enorme Schleimmassen bildete, wuchs in Adhäsionskulturen nach Lindner (31) teils in breiten, schleimigen Massen, teils auch in kleinen Kugeln in der Flüssigkeitsschicht, zwischen Objektträger und Deckgläschen schwebend. Die Entstehung dieser Kugelkolonieen zeigt Fig. 23. Von der formlosen Schleimmasse lösen sich kleinere Teile los, die sich zu Kugeln abrunden, wenn der Raum zwischen Objektträger und Deckglas etwas größer wird. Die Figur zeigt in der formlosen Schleimmasse deutlich die einzelnen Torula-Zellen, während die Kugelform dieselben nicht mehr erkennen läßt. Durch Druck auf das Deckgläschen bildet sich aus den Kugeln wieder eine formlose Schleimmasse. Der Durchmesser der Kugeln beträgt meistens 40—60 μ, doch gibt es auch kleinere von 20—30 μ und große bis zu 130 μ Durchmesser.

Ich kann nicht mit Bestimmtheit sagen, ob sich die Kugeln als solche durch Teilung vermehren, denn eine solche konnte nie beobachtet werden; trotzdem halte ich es für wahrscheinlich, denn die Zahl der Kugeln nimmt oft sehr stark zu und auch an der Seite, die der Schleimmasse abgewendet ist. Die Kugeln liegen dann dichtgedrängt, oft in mehreren Schichten übereinander. — Es ist offenbar, daß hier bei diesen schwebenden Kolonieen allein die Oberflächenspannung die Kugelform bedingt. Auf Agar bilden sie kleine, gewölbte, mattrosa gefärbte Kolonieen.

Eine sehr merkwürdige Erscheinung ist das Auftreten zweier verschiedener Kolonieentypen in älteren Präparaten. Die ursprünglichen Kugeln waren dunkel gelbbraun wie tiefliegende Kolonieen in Gelatine und ließen die einzelnen Zellen nicht deutlich erkennen. Neben diesen finden sich später andere, welche nur wenige große, deutlich erkennbare Zellen enthalten, die in der vollkommen wasserklaren Schleimschicht liegen. Sie liegen zuweilen nur an einem Rande der Schleimkugel und in manchen Kolonieen muß man die Zellen erst suchen, so versteckt liegen sie am Rande. Diese zweite Form sieht bei starker Vergrößerung wie ein Aspergillus-Köpfchen aus (Fig. 10, Taf. II). Eine Erklärung dieser merkwürdigen Doppelform kann ich zur Zeit noch nicht geben.

10. Einfluß des Lichtes auf die Kolonieenform.

Zu den wichtigsten der Einflüsse, denen alle Mikroorganismen unterworfen sind, und die sich nicht nur im Leben des einzelnen Individuums, sondern auch bei dem Entstehen und bei der Ausbildung der Kolonieen deutlich bemerkbar machen, gehört der Einfluß des Lichtes.

Entweder wirkt er allein oder vereint mit den Einflüssen des Luftsauerstoffs und der Temperatur.

Die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum der Pilze ist schon vielfach untersucht worden, aber meiner Meinung nach nicht in erschöpfender Weise und unter Beobachtung der hierbei nötigen Vorsichtsmaßregeln.

Die Untersuchungen von Downes und Blunt, ferner von Ward, Dieudonné und Buchner beweisen, daß intensives Licht das Wachstum der Bakterien, Pilze etc. schädigt. Nicht alle Mikroorganismen sind gleich empfindlich gegen Licht. Die Empfindlichkeit wechselt vielmehr von Art zu Art und ist auch abhängig von dem Ernährungszustande der Organismen.

Schützt man die wachsenden Kolonieen nicht gegen das Licht, so erkennt man den Wechsel der Einwirkung, den der Wechsel von Tag und Nacht mit sich bringt, sehr deutlich an konzentrischen Zonen oder Ringen, die nicht nur an der Oberfläche, sondern auch in den tiefer liegenden Schichten der Kolonieen auftreten.

Diese Ringbildung ist eine längst bekannte Erscheinung, aber ich habe bis jetzt in der Literatur eine Erklärung dafür nicht gefunden. In allen Lehrbüchern (vgl. auch Serkowski) wird die Erscheinung als charakteristisch für gewisse Organismenarten beschrieben, und für einen Fall, bei Micrococcus concentricus, bemerkt Migula (System der Bakterien), daß er die von anderen behauptete Ringbildung nicht beobachten konnte.

Vermutlich bezieht sich diese Beobachtung auf Kulturen, die im Dunkeln gewonnen wurden und an denen dann natürlich die Ringbildung nicht eintreten konnte, weil das Wachstum ununterbrochen gleichförmig und nicht periodisch bald lebhafter, bald weniger lebhaft erfolgte. Aus diesem Grunde halte ich es für falsch, unter den verschiedenen Typen der Bakterienkolonieen, wie es Serkowski getan hat, die Kolonieen mit konzentrischen Ringen als einen besonderen Typus aufzuführen. Man könnte die Ringbildung für diagnostische Zwecke nur dann benutzen, wenn man den Einfluß des Lichtes dabei genau berücksichtigt.

Diese Ringe lassen sich sehr leicht erkennen, namentlich in Kolonieen von Bac. subtilis, Bac. megatherium, Bac. fluorescens liquefaciens, Sarcina lutea und vielen anderen. Einige Organismen, wie Spirillum concentricum und Micrococcus concentricus haben davon ihren Namen erhalten.

Ich werde im zweiten Teil dieser Arbeit zeigen, daß diese Ringbildung nicht allein die Folge von abwechselnden Wachstums- und Ruheperioden ist, sondern daß auch die Struktur der Kolonie einen sehr wesentlichen Anteil daran nimmt.

Auch an Hefekolonieen beobachtet man die Ringbildung häufig. Man braucht nur die zahlreichen Abbildungen in Lindners Mikroskopischer Kontrolle der Gärungsgewerbe und in seinem Atlas durchzusehen, um sich zu überzeugen, daß sie sehr häufig vorkommt.

Auch hier schreibe ich diese Erscheinung dem Einfluß des Lichtwechsels zu. Wenn Kny und Lohmann behaupten, daß „mäßiges Licht gar keinen Einfluß auf das Wachstum“ hätte, so wurde dies durch meine Untersuchungen nicht immer bestätigt; das kommt wohl daher, daß die Lichtempfindlichkeit der verschiedenen Hefearten zwischen sehr weiten Grenzen schwankt.

Die Behauptung Lohmanns stützt sich auf Versuche über den

Einfluß von natürlichem und künstlichem Licht auf die Zellteilung der Hefe. Wenn auch die Versuche mit verschiedenen Hefearten (Saccharomyces cerevisiae, Mycoderma cerevisiae, Sacc. Pastorianus und 2 Torula-Arten) ausgeführt werden, so können doch die benutzten Rassen zufällig sämtlich unempfindlich gewesen sein; vielleicht war auch die Versuchsdauer eine zu kurze.

Da bei seinen Untersuchungen auch die Temperatur schwankte, so ist es nicht möglich, den Einfluß der Belichtung von dem der Temperatur zu trennen.

Bei Anwendung von Tageslicht (diffus aber doch ziemlich stark) beobachtete Lohmann Unterschiede in der Zellteilungsgeschwindigkeit im Licht und im Dunkeln wie 7,5 : 8 und wie 5,0 : 5,8. Die nachstehende Tabelle bringt die Ergebnisse von Versuchen, die ich im April 1905 mit Kahmhefe in Würze anstellte. Die Temperatur blieb bei diesen Versuchen fast konstant, sie schwankte nur um $^1/_2{}^0$ C und das Tageslicht wirkte ungehindert von morgens bis abends 6—8 Tage lang ein.

Die Versuche wurden so angestellt, daß sich in jeder der 12 großen Glasflaschen 6 Reagenzröhrchen mit je 20 ccm Würze befanden. Jedes der Röhrchen wurde mit einer Oese vergorener Würze geimpft und die Flaschen zugekorkt. Durch den Kork gingen 2 Rohre, mittels welcher Luft resp. Sauerstoff oder sauerstofffreier Wasserstoff eingeleitet wurden. Die Rohre wurden dann zugeschmolzen und die Kulturen im Brutschrank (Temperatur $22^1/_2$—23^0 C) oder im Zimmer (Temperatur 14^0 bis 21^0 C) aufgestellt. Einige Flaschen wurden in schwarzes Papier eingewickelt. Nach dem Schlusse der Versuche wurde die gesamte Flüssigkeit der 6 Röhrchen in jeder Flasche zusammengegossen und 100 ccm mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge titriert, während der Rest (d. h. 20 ccm) zur Zellzählung diente. Es wurden 2 Reihen von Versuchen angestellt, A und B, deren Zeitdauer 8 resp. 6 Tage war. Wenn auch einzelne der Kulturen ziemlich stark abweichen, so zeigen die anderen sehr gut übereinstimmende Resultate. In der Mehrzahl der Kulturen tritt eine Vermehrung der Zellen in der Dunkelheit (in Kulturen 1—8) und pro Millionen Zellen eine verminderte Säureproduktion hervor.

Merkwürdig scheint der Einfluß des Lichtes auf die Sprossung im Wasserstoff zu sein. Die Kulturen A 9, 10, 11, 12 und B 9 und 10 zeigen eine stärkere Sprossung im Wasserstoff und Licht als im Wasserstoff und in der Dunkelheit. Dies könnte auf eine geringe Reizwirkung zurückzuführen sein.

Obgleich die erwähnten Ringe an den Kolonieen vieler Hefearten ohne weiteres zu sehen sind, war dies bei meinen Kahmhefekolonieen nicht möglich. Bei meinen Versuchen über das Fixieren der Kolonieen entdeckte ich jedoch, daß sich beim Uebergießen der Kolonieen mit Wasser oder besser noch mit geschmolzenem Agar oder Gelatine, die obere Zellschicht abtrennte und auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwamm, und daß sich in dieser Zellschicht die Ringe sehr deutlich erkennen ließen. Diese Unbenetzbarkeit ist sehr wahrscheinlich auf die Gegenwart von Luft in der oberen Zellschicht zurückzuführen.

Man könnte nun noch einwenden, daß die Ringbildung möglicherweise eine gewöhnliche, d. h. eine normale Wachstumserscheinung wäre. Ich werde jedoch im zweiten Teil dieser Arbeit zeigen, daß sie die Folge besonderer physiologischer Vorgänge in den Kolonieen ist. Sie kennzeichnet sich als

Versuche mit Kahmhefe in Bierwürze (100 ccm frischer Würze = 0 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH).

	Kulturbedingungen	Serie A. Versuchsdauer: 8 Tage			Serie B. Versuchsdauer: 6 Tage		
		Acidität der Würze pro 100 ccm	Anzahl der Zellen pro ccm	Länge der Zellen	Acidität der Würze pro 100 ccm	Anzahl der Zellen pro ccm	Länge der Zellen
In Luft	I. Bei wechselnder Temperatur und wechselndem Licht	16,8 ccm $\frac{N}{10}$NaHO	45 000 000	4,5 μ	18,2 ccm $\frac{N}{10}$NaHO	71 500 000	5,5 μ
	II. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit	17,4 „ „	74 000 000	5,5 μ	15,0 „ „	60 000 000	4,0 μ
	III. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht	54,6 „ „	75 000 000	4,5 μ	27,8 „ „	61 000 000	4,5 μ
	IV. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit	42,9 „ „	100 000 000	4.0 μ	23,0 „ „	71 000 000	3,0 μ
In O_2	V. Bei wechselnder Temperatur und wechselndem Licht	17,0 „ „	49 000 000	5,5 μ	13,0 „ „	34 000 000	5,0 μ
	VI. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit	17,4 „ „	40 500 000	5,5 μ	15,0 „ „	36 000 000	4,5 μ
	VII. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht	51,8 „ „	65 000 000	5,5 μ	27,8 „ „	38 000 000	6,0 μ
	VIII. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit	48,6 „ „	69 000 000	6 0 μ	29,0 „ „	72 000 000	6,3 μ
In H_2	IX. Bei wechselnder Temperatur und wechelndem Licht	19,7 „ „	45 000 000	4,0 μ	14,8 „ „	44 000 000	—
	X. Bei wechselnder Temperatur und Dunkelheit	8,2 „ „	24 500 000	4,0 μ	6,2 „ „	30 000 000	4,5 μ
	XI. Bei konstanter Temperatur und wechselndem Licht	30,3 „ „	41 500 000	5,5 μ	0,2 (?) „ „	3 500 000 (?)	4,0 μ
	XII. Bei konstanter Temperatur und Dunkelheit	27,7 „ „	38 000 000	5,5 μ	12,2 „ „	20 500 000	4,5 μ

die äußere Erscheinung gewisser im Innern der Kolonie vorhandener Unterschiede der Zellformen.

Wie bei den Kolonieen von Bakterien und Hefen, so tritt die Ringbildung auch bei den Kolonieen von Schimmelpilzen auf.

Die Kolonieen verschiedener Varietäten von Penicillium, Aspergillus, Mucor, Oidium und Dematium zeigen deutlich sichtbare konzentrische Zonen, die aus abwechselnden Ringen von Sporenträgern und Mycel bestehen.

Daher kann ich die Behauptung von Klebs (17), daß das Licht keinen Einfluß auf das Wachstum von Eurotium und Penicillium habe, nicht für richtig halten. Fig. 7 (Penicillium glaucum-Kultur auf Fleischwasserpeptonagar) zeigt deutlich die Zonenbildung. An Kulturen verschiedener Schimmelpilze auf Agar konnte ich feststellen, daß die hauptsächlich aus Konidienträgern bestehenden Ringe unter dem Einfluß des Lichtes gebildet werden.

An Gelatinekulturen traten die Ringe weniger scharf hervor und lassen sich manchmal gar nicht erkennen: Abbildungen von Schimmelpilzen mit deutlicher Zonenbildung findet man vielfach in der Literatur, so z. B. in der Arbeit von Milburn (18) über Hypocrea, auch in der Arbeit von Oudeman et Koning (19) über Penicillium geophilum und Cephalospora humicola, ferner im Atlas zu Kolle-Wassermann, Handbuch. Taf. VII. In einigen Versuchen Milburns, bei denen eine Verflüssigung des Substrates eingetreten war, ließ sich Ringbildung nicht erkennen, wahrscheinlich deswegen, weil sie durch Verschiebung der einzelnen Mycelfäden verwischt worden war. Man kann jedoch gelegentlich selbst auf Kulturflüssigkeiten, die vor jeder Erschütterung bewahrt worden sind, die einzelnen Tagesringe deutlich erkennen.

Aus den Beobachtungen Milburns und aus meinen eigenen Wahrnehmungen geht hervor, daß sich mit den Kulturbedingungen auch die Empfindlichkeit der Organismen gegen Licht ändert. Milburn hat bei seinen Untersuchungen diesen Umständen ohne Zweifel zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Wenn er z. B. behauptet, allein der Sauerstoff der Luft sei bei der Konidienbildung von ausschlaggebender Bedeutung, so bleibt noch unerklärt, woher die starken Schwankungen im Sauerstoffgehalt der Luft bei Tag und Nacht kommen.

Um den Einfluß des Lichtes vollständig auszuschließen, müßte man die Kulturen im Dunkeln wachsen lassen und dürfte sie nur in rotem Licht beobachten; da schon eine ganz kurze Einwirkung von Tageslicht eine deutlich erkennbare Wirkung ausüben kann.

Große Empfindlichkeit gegen Licht zeigen Oidium lactis und ein Dematium-ähnlicher Organismus, der unten beschrieben werden soll.

Fig. 7, Taf. II zeigt eine Kultur von Oidium lactis, die dem abwechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit ausgesetzt, und Fig. 8 eine Kultur, die ganz in schwarzes Papier eingewickelt und nur einmal 2 Minuten lang während der Untersuchung dem Lichte ausgesetzt worden war. Man erkennt deutlich den Ring, der infolge der Belichtung entstand. Noch empfindlicher gegen Licht erwies sich der Dematium-ähnliche Organismus. Schon durch eine nur eine Minute dauernde Belichtung wurde nicht nur eine Farbenänderung, sondern auch eine Aenderung der ganzen Art des Wachstums angebahnt, die aber erst später in Erscheinung trat. 12—24 Stunden nach der Belichtung war sie meistens deutlich sichtbar. Aenderungen in der Art des Wachstums

lassen sich sehr gut an Kulturen von Penicillium glaucum beobachten. Während der Nacht wächst ein sehr kräftiges Mycel, das an seinem äußeren Rande ausgefranst ist; am darauffolgenden Tage unter dem Einflusse des Lichtes wächst wenig Mycel, dagegen bilden sich Sporenträger.

Bei derartigen Versuchen ist es äußerst schwierig, die verschiedenen Einflüsse von Licht, Sauerstoff und Temperatur vollständig auseinander zu halten und gesondert zu verfolgen. Bei den obligat aëroben Schimmelpilzen kann, wenn Wachstum eintreten soll, der Zutritt von Luft überhaupt nicht ganz ausgeschlossen werden. Wurden Kulturen solcher Organismen bei ungehindertem Luftzutritt im Dunkeln gehalten, so erfolgte keine Zonenbildung, aber es trat eine starke Mycelbildung ein, und es entwickelten sich nur in der Mitte der Kulturen einige Konidienträger. In dem einen Falle wurde eine Kulturplatte ohne Deckel in der Dunkelkammer frei zur Luft, in dem anderen eine Platte unter eine Glasglocke gestellt. Hier wurde der Sauerstoff mittels Pyrogallol absorbiert. Bei freiem Lichtzutritt, aber im sauerstoffarmen Raum, traten die abwechselnden Zonen von Mycel und Konidienträgern deutlich hervor, und als die Kulturen älter wurden, bedeckte sich die ganze Mitte der Kolonie mit Konidienträgern. Solche, unter ungewöhnlichen Umständen gewachsene Kulturen sehen etwas filziger aus als normale Kulturen, zeigen aber sonst keine Unterschiede. Aus diesen und noch aus vielen anderen Versuchen muß man schließen, daß die niederen Organismen gegen Licht, und zwar besonders in Gegenwart von Sauerstoff, äußerst empfindlich sind.

C. Die Struktur der Kolonieen.

Im Laufe der vorstehenden Untersuchungen wurde mein Interesse wiederholt auf die Beschaffenheit der Struktur der Kolonieen und auf die Frage der Einwirkung der äußeren Einflüsse darauf hingelenkt. Ich vermutete, daß es möglich sein könnte, Verschiedenheiten nach Form und Wesen an den Zellen der verschiedenen Teile einer Kolonie nachzuweisen.

Ich entschloß mich, der Sache näher zu treten und mich zunächst darüber zu unterrichten, was in dieser Hinsicht etwa erreicht werden könnte. Mit Ausnahme der Arbeiten von Axelrad, Münden, Serkowski und neuerdings von Saul, bietet die bakteriologische Literatur meines Wissens hierüber nichts.

Es wird offenbar als selbstverständlich angenommen, daß die Kulturen aus einer großen Zahl gleichartiger, regellos durcheinander liegender Zellen beständen. An die Möglichkeit, daß Kolonieen eine bestimmte Struktur haben, und daß die Zellen in ihnen von verschiedener Beschaffenheit sein könnten, je nach den in den einzelnen Teilen der Kolonie herrschenden Lebensbedingungen, scheint man gar nicht gedacht zu haben.

Für Hefekolonieen hat Will gezeigt, daß Zellen aus verschiedenen Teilen der Kolonieen verschiedene morphologische und physiologische Eigenschaften besitzen. Als ich meine Arbeiten in Angriff nahm, waren mir die Untersuchungen Wills noch nicht bekannt, und da ich in ganz anderer Weise arbeitete wie er, war es mir interessant, meine Resultate mit den seinigen zu vergleichen. Wieweit unsere beiderseitigen Unter-

suchungen übereinstimmen oder in ihren Ergebnissen auseinandergehen, werde ich später in den Kapiteln über Hefekolonieen zeigen.

Bei dem Studium der Kolonieen der niederen Organismen drängt sich zunächst die Frage auf, ob die Kolonieen als Zellstaaten aufzufassen seien, oder ob jede Zelle für sich und unabhängig von allen übrigen vegetiere.

Träfe das erstere zu, so würde es sich, da zahllose Zellen verschiedenen Alters zusammenliegen, vor allem fragen, ob zwischen den Zellen eine gewisse Arbeitsteilung stattfände.

Wenn auch die Verhältnisse bei den Bakterienkolonieen verhältnismäßig einfach sind, gestalten sie sich doch bei den Hefenkolonieen wesentlich verwickelter, bei denen man es mit einem Wechsel der Zellformen in den verschiedenen Teilen der Kolonieen zu tun hat. Ein eingehendes Studium dieser Verhältnisse ist vor allem nötig, wenn man nicht zu falschen Schlüssen kommen will. Neben den Arbeiten von Münden und Serkowski möchte ich, bevor ich meine eigenen Untersuchungen beschreibe, noch die nachstehenden Arbeiten, welche für die Methode der Untersuchung von Bedeutung sind, kurz erwähnen.

Fischl (20) hat schon 1887 eine Methode zur Darstellung von Schnitten aus Stichkulturen ausgearbeitet und bekannt gegeben und Neisser (21) hat diese Arbeitsmethode noch vervollkommnet. Man verfährt nach Neisser wie folgt: die Gelatineröhrchenkulturen werden kurze Seit in warmes Wasser gestellt, damit sich die Gelatine vom Glas loslöst. Die herausgenommenen Gelatinesäulen legt man in eine 1-proz. Kaliumbichromatlösung und setzt sie in dieser Lösung je nach ihrer Größe und Dicke einer 1—8-tägigen Belichtung aus. Nachdem die Stücke die gewünschte Härte gewonnen haben, wässert man sie gründlichst aus und bringt sie zunächst in 70—90-proz. Alkohol, sodann in absoluten Alkohol, schneidet mit dem Mikrotom und färbt die erhaltenen Schnitte nach der Gramschen oder Weigertschen Vorschrift. Da die äußere Rinde der Gelatinesäulen durch das Fixieren zu hart geworden war, muß sie vor dem Schneiden entfernt werden.

Jacobi (22) hat ein Verfahren zur Anfertigung von Schnitten durch Gelatineplattenkulturen mitgeteilt. Die Härtung erfolgte nach der eben erwähnten Neisserschen Methode. Jacobi sagt von seinem Verfahren: „Gegenüber den Klatschpräparaten hat die Methode, ganz abgesehen von ihrer größeren Bequemlichkeit und Sicherheit, noch den einen sehr wesentlichen Vorzug, daß man auch die im Innern der Platten liegenden Kolonieen, sowie das so oft charakteristische Eindringen der Bakterien in die Gelatine beobachten kann, und daß man auch die oberflächlichsten Kolonieen mit ihren feinsten Verzweigungen genau in ihrer Lage erhält". Mit Agaragar gelang es ihm nicht, befriedigende Ergebnisse zu erhalten. Leider unterläßt er es, in seiner Arbeit die Resultate seiner Versuche zu beschreiben.

Hardy (23) hat bei seinen Untersuchungen über die Struktur des Zellprotoplasmas zur Härtung von Gelatine und Agar Alkohol, Osmiumsäure, Quecksilberchlorid, Formalin u. s. w. benutzt, sagt aber nicht näher, wie er dabei verfuhr. Von Pick (24) rührt eine Methode her zur Gewinnung von Schnitten von tiefliegenden Kolonieen. Er härtet seine Präparate ähnlich wie Hardy mit Formalin. Leider gelang es mir trotz vieler Mühe nicht, die Publikation Picks zu erlangen, bevor ich daran ging, selbst eine Methode zur Herstellung von Schnitten von Oberflächenkolonieen auszuprobieren.

Die Picksche Methode hat Saul (38) bei seinen Arbeiten über den Bau tiefliegender Kolonieen angewendet. Er hat es aber, wie es scheint, dabei unterlassen, die morphologischen Eigenschaften der einzelnen Zellen näher zu untersuchen. Kellermann (25) härtete Oberflächenkolonieen mit Essigsäure und Alkohol und bettete sie, um Schnitte herstellen zu können, in Paraffin ein. Er beschreibt die erzielten Erfolge nicht. Nach den Erfahrungen, die ich mit diesem Verfahren machte, wird die Masse, in der die Kolonie liegt, äußerst brüchig, löst sich daher leicht vom Nährboden ab und zerfällt beim Versuch, sie zu schneiden, in kleine Stücke.

Da es mir zunächst darauf ankam, die Struktur der ganzen Kolonieen, nicht aber die physiologischen Eigenschaften der einzelnen Zellen zu studieren, so mußte ich ein Verfahren ausfindig zu machen suchen zur Gewinnung von Schnitten, die nicht nur ein Bild der einzelnen Zellen, sondern auch der gesamten Kolonie geben konnten. Ich versuchte es, Schnitte durch Kolonieen herzustellen und kam nach vielen Versuchen zu der folgenden Methode, die sich für meine Zwecke am besten eignete und von der ich nur unter ganz besonderen Umständen im Einzelnen abging.

In der Mehrzahl der Fälle verwendete ich Agarkolonieen, da es mir nicht gelingen wollte, gute Schnitte durch Kolonieen auf Gelatine zu erhalten.

Fixierung der Kolonieen.

Beim Fixieren der Oberflächenkolonieen verfuhr ich in der Weise, daß ich ca. 10 ccm einer Mischung von geschmolzenem 1,5-proz. Agar und Formalin im Verhältnis von 30:1 bei 50° C über die Kolonieen goß. Im allgemeinen bewährte sich dieses Verfahren sehr gut, nur bei der Behandlung von Kolonieen der Kahmhefen und Schimmelpilze ergaben sich Schwierigkeiten, und zwar deshalb, weil sie in der oberen Schicht Luftblasen bildeten; der Schnitt hing alsdann nicht gut zusammen und das Bild der Struktur wurde infolgedessen zerstört.

Ich versuchte auch, die Kolonieen durch Formalindämpfe und darauf folgendes Bespritzen mit feinverteiltem Alkohol oder Aether zu fixieren, ohne befriedigende Erfolge zu erzielen.

Die Behandlung mit Formalin hatte nicht nur den Zweck, die Kolonieen zu härten, sondern vor allen Dingen auch, sie so schnell wie möglich abzutöten. Geschah dieses nicht, so entstanden stets Gasblasen im Innern oder an der Oberfläche der Kolonieen und zerstörten die Struktur der ganzen Kolonieen.

Färbung und Durchtränkung.

Nach einigen Stunden wurden die Kolonieen mit der umliegenden Agarschicht aus der Agarplatte herausgeschnitten und kurze Zeit in Farbstofflösung gelegt, gewöhnlich in eine Lösung von Saffranin, das die Kolonie stark färbte. Doppelte Stückfärbung erwies sich nicht als zweckmäßig. Hierauf wurden die Stücke in bekannter Weise der Reihe nach mit verdünntem, mit stärkerem, mit absolutem Alkohol, mit Chloroform behandelt und in Paraffin vom Schmelzpunkt von 54° C eingebettet. In der Regel blieben die Stücke 12 Stunden im geschmolzenen Paraffin bei etwa 56° im Heizschrank stehen und wurden dann herausgenommen und schnell abgekühlt. Die erstarrte Masse wurde mit dem Mikrotom

geschnitten. Schnitte, die etwa doppelt so stark waren als der Querdurchmesser der Zellen, also von 3 bis 5 μ Dicke, erwiesen sich als am besten brauchbar. Die Schnitte wurden auf warmes Wasser gelegt und entweder nochmals gefärbt oder sogleich auf dem Objektträger in mit Xylol verdünntem Kanadabalsam eingeschlossen. So behandelte Präparate bewahren ihre Färbung lange Zeit unverändert und lassen sich unter dem Mikroskop gut untersuchen.

1. Struktur der Bakterienkolonieen.

Wenn man das Wachstum einer Bakterienkolonie aus einer einzigen Zelle verfolgt, wie es im ersten Teil dieser Arbeit beschrieben wurde, so sieht man, daß die jungen Kolonien in den ersten Stadien ihrer Ausbildung aus einem Haufen von Zellen, die regellos durcheinander liegen, bestehen. Schon nach kurzer Zeit ändert sich dies und gewinnen die Kolonieen eine mehr oder weniger regelmäßige Gestalt. Können sich die Bakterien auf der Oberfläche des Nährmediums fortbewegen, so entstehen flache Kolonieen, wie man sie so häufig auf frischen Agar-Platten sieht. Fehlt jedoch an der Oberfläche das dazu nötige Wasser, so finden die nach außen strebenden Bakterien Widerstände, durch die ein von der Peripherie gegen das Zentrum der Kolonie, gegen die Impfstelle gerichteter Druck hervorgebracht wird. Die Wirkung dieses Druckes wird teilweise ausgeglichen dadurch, daß in der Mitte wegen Erschöpfung des Substrates an Nährstoffen das Wachstum sich verlangsamt, während in der Nähe der Peripherie infolge von Chemotropismus, hervorgerufen durch den Reichtum an frischen Nährstoffen in der Nähe der Kolonie, die Energie des Wachstums dieselbe bleibt. Dazu kommt noch, daß vielleicht die Zellen eine durch negative Tigmotaxis hervorgerufene Neigung erlangen, in radialer Richtung zu wachsen. Jedenfalls hat man es in jeder Oberflächenkolonie mit zwei Kräften, die in zentripetaler bezw. zentrifugaler Richtung wirken, zu tun.

Bei näherer Untersuchung der Struktur der Kolonieen werden wir Gelegenheit finden, die Folgen der Wirkung dieser Kräfte zu erkennen.

Kolonieen des Bacillus subtilis.

Die Oberflächenkolonieen von Bac. subtilis haben in der Regel die Form großer, flacher Scheiben von ca. 0,3 mm Dicke. Bei schwächerer Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Ränder der Kolonieen etwas unregelmäßig. Man sieht an ihnen einzelne Zellen und Fäden. Ein Schnitt durch eine solche Kolonie bietet ein sehr interessantes Bild (s. beistehende Fig. 6 und Fig. 11, Taf. III).

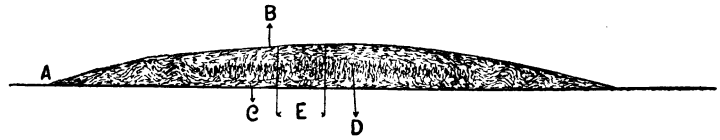


Fig. 6. Schnitt durch eine Kolonie von Bacillus subtilis.

Am Rande (*A*) der Kolonie liegen die Zellen meistenteils horizontal und sind radial gerichtet; sie lassen sich leicht färben, scheinen ganz gesund und voll von Protoplasma zu sein und lassen nur in älteren Kolonieen Sporenbildung erkennen. Ihre Größe beträgt ca. 1×4 μ.

In den obersten Schichten (*B*) der Kolonie zeigt die Längsachse der Zellen eine Richtung nach den verschiedensten Seiten, doch sind die Zellen in der Mehrzahl horizontal gelagert. Da diese Zellen älter als die Randzellen sind, färben sie sich nicht so leicht; auch zeigen schon viele Zellen Sporen in ihrem Innern. In den unteren Teilen (*C*) findet man die Zellen sowohl in horizontaler als auch in anderer Lage. Die in der Nähe des äußeren Randes befindlichen Zellen sind etwas kürzer und dicker ($1{,}5 \times 3\ \mu$) als es sonst gesunde Zellen dieser Art zu sein pflegen, je näher die Zellen dem Zentrum liegen, um so kürzer und dicker werden sie, und in der Mitte trifft man Involutionsformen und Zellen, die vermutlich längst abgestorben sind. Die mittlere Schicht (*D*) einer solchen Kolonie besteht hauptsächlich aus Involutionsformen, aus Zellen, deren Größe ca. $2{,}5 \times 2{,}5\ \mu$ beträgt und die in Ketten in senkrechter Lage angeordnet sind.

In der Mitte macht die Dicke dieser Schicht ungefähr $^3/_4$ der Dicke der Kolonie aus; sie unterscheidet sich von den übrigen Teilen der Kolonie in auffallender Weise.

Junge Oberflächenkolonieen bestehen gewöhnlich nur aus einer Zellschicht und erst bei weiterem Wachstum bilden sich durch Uebereinanderschiebung mehrere Zellschichten. Der Druck, den wir oben als zentripetalen Druck bezeichneten, trägt auch dazu bei, daß sich die Zellen in mehreren Schichten übereinander lagern. Die Zellen der obersten und untersten Schicht nehmen unter der Wirkung der Kohäsion der Kolonie, bezw. der Adhäsion am Substrat eine horizontale Lage an, vielleicht auch, weil sie sich in dieser Lage am besten ernähren können: sie bieten dem Diffusionsstrome der Nährstoffe eine möglichst große Oberfläche. Da die Zellen im Innern weniger energisch wachsen als die Zellen der äußeren Partieen der Kolonie, überwiegt für sie der zentripetale Druck den zentrifugalen, sie werden somit zusammengedrückt und erhalten dadurch eine zur Druckrichtung senkrechte Lage, d. h. ihre Längsachse stellt sich mehr oder weniger genau senkrecht, wie es Fig. 1, Taf. I bei Bacillus lactis albus zeigt.

In Kolonieen dieses Organismus findet man häufig (siehe Skizze) eine wellenähnliche Lagerung der Zellen in den Partieen zwischen dem Zentrum und der äußeren Oberfläche und dem Rande.

Ich erkläre mir dies daraus, daß die Lebensenergie der Bakterien, wenn auch Nährstoffe und Sauerstoff ununterbrochen in reichen Mengen vorhanden sind, doch nicht immer gleich lebhaft ist. Sie wird durch den Wechsel der Einflüsse von Licht und Dunkelheit, von höherer oder tieferer Temperatur bald erhöht, bald heruntergestimmt. Hierdurch entstehen abwechselnd größere oder geringere Druckwirkungen und dieser Wechsel ruft weiter die ungleichmäßigen, wellenähnlichen Biegungen[1]) der Zellfäden hervor.

Obgleich die untersten in unmittelbarer Berührung mit dem Nährmedium stehenden Zellen keinen Mangel an festen und flüssigen Nährstoffen leiden, ist doch die Luftzufuhr stark behindert. Hierdurch und durch die in der Mitte stattfindende Anhäufung von Stoffwechselprodukten, kommen die hier liegenden Zellen allmählich zum Absterben.

In den Kapiteln über Hefekolonieen werde ich auch noch den Einfluß der Stoffwechselprodukte auf die Zellform besprechen.

---

1) Ob diese Bildungen die direkte oder indirekte Ursache der Ringbildung an den Kolonieen von Bac. subtilis sind, wenn die Kolonieen abwechselnd im Licht und im Dunkeln wachsen, habe ich noch nicht feststellen können.

Infolge verminderter Zufuhr von Sauerstoff und anderen Nährstoffen befinden sich die Zellen in den mittleren Schichten beinahe unter ebenso ungünstigen Bedingungen wie die der unteren Partieen, woraus sich das Vorkommen der Involutionsformen in diesen Schichten erklärt. In den Zellen der oberen Schicht, denen genug Sauerstoff, aber sehr wenig an sonstigen Nährstoffen zur Verfügung steht, tritt besonders reichliche Sporenbildung auf.

Kolonieen des Bacillus megatherium.

Die Kolonieen dieses Organismus sind denen von Bac. subtilis sehr ähnlich. Sie zeigen dieselben Strukturverhältnisse und auch die Lage der Bakterienfäden ist ganz ähnlich.

Da die Fäden, die Bac. megatherium bildet, nicht so lang sind wie bei Bac. subtilis, so treten die Krümmungen der Fäden an den Rändern der Kolonieen weniger stark hervor. Jedoch ließ sich auch hier an einigen Präparaten die wellenartige Struktur ziemlich deutlich erkennen. Sporenbildung trat am stärksten an der Oberfläche und den Rändern der Kolonieen auf.

In diesen Partieen der Kolonie scheinen die Bakterien auch am kräftigsten entwickelt zu sein, da sie voll von Protoplasma, auch völlig normal gestaltet waren und sich leicht färben ließen.

Zum Teil nahmen diese Zellen auf dem Nährsubstrat selbst die Farbe ziemlich gut an, jedoch nur an den Stellen, die nicht zu weit von dem Kolonierand entfernt waren (vgl. Fig. 12, Taf. III).

In der zentralen Partie der Kolonieen und in den mittleren und unteren Schichten färbten sich die Zellen entweder nur sehr schwach oder gar nicht. Die Zellen bestanden hier fast nur aus der Zellmembran, waren sehr arm an Protoplasma und Zellflüssigkeit und zeigten auch keine Sporen, vermutlich infolge von Sauerstoffmangel. Wahrscheinlich waren die meisten dieser Bakterien bereits abgestorben.

Ueber die Fähigkeit der Bakterien, Farbstoffe anzunehmen, schreibt Gotschlich (26), daß „sich aus dem völligen Mangel hieran mit Sicherheit auf eingetretenen Tod der Bakterienzellen schließen lasse".

An anderen Stellen waren auch die Zellhüllen fast verschwunden und waren nur noch organische Reste vorhanden. In den mittleren Schichten der Kolonieen traten ungeheuere Mengen teils rundlicher, teils dicker, viereckiger Gebilde auf, die als Involutions- oder Degenerationsformen anzusehen sind. Sie waren entweder sehr arm an Zellinhalt und hatten dann nur eine schwache Färbung angenommen, oder ließen sich leicht färben, und ließen dann in ihrem Innern eine ziemliche Anzahl von Zellkörnchen erkennen. Es ist wohl anzunehmen, daß sich in diesen Teilen der Kolonieen die Ernährungsbedingungen sehr ungünstig gestaltet hatten. Hierüber schreibt Gotschlich wieder: „Der äußerste Grad von Degeneration zeigt sich in alten Kolonieen in völligem Zerfall der Bakterien in unregelmäßige Teilstücke und Körner, ein Vorgang, für den Kruse die Bezeichnung ‚Fragmentation' vorschlägt; auch hielt er es durchaus für nicht ausgeschlossen, daß diese Körnchen bei Uebertragung auf neues Nährsubstrat sich wieder regenerieren. In dieser Weise sind auch wahrscheinlich die Befunde Bliesenders bei Cholerabacillen (Existenz ovaler, glänzender Körperchen in alten Cholerakulturen in Wasser, aus denen dann wieder normale Vibrionen hervorgehen) zu denken."

Die Bildung von Involutionsformen oder, richtiger gesagt, die Umwandlung gesunder Zellen in Involutionsformen scheint ziemlich schnell vor sich zu gehen. Kolonieen, die 8—10 Tage alt sind, bestehen zu $^2/_3$ der ganzen Breite der Kolonie aus solchen Formen. Da sich die Bakterien an der Oberfläche, obwohl sie wahrscheinlich ebenso alt sind, doch noch in gutem Zustande befinden, so müssen wir schließen, daß die Gegenwart oder das Fehlen von Stoffwechselprodukten einen großen Einfluß auf die Lebensvorgänge der Bakterien ausübt. Freilich läßt sich nicht bestimmt sagen, ob diese Zellen, trotz ihres guten Aussehens noch alle am Leben waren. Nach Gotschlich läßt sich aus der morphologischen Betrachtung kein sicherer Schluß auf die Lebensfähigkeit eines in Degeneration begriffenen Bakteriums ziehen; einerseits können völlig normal erscheinende Bakterien (z. B. nach Abtötung durch Chloroform) definitiv abgestorben sein, andererseits können Gebilde, die mit dem betreffenden Bakterium gar keine Aehnlichkeit haben, in Körnchen zerfallene Choleravibrionen bei Pfeiffers Reaktion, Degenerationsformen des Pestbacillus, in infizierten Körpern noch völlig lebensfähig sein und sich bei Uebertragung auf frisches günstiges Nährsubstrat regenerieren.

2. Die Struktur der Hefekolonieen.

Ich untersuchte die Kolonieen verschiedener Hefen. Am eingehendsten beschäftigte ich mich mit zwei Saccharomyces-Arten: 1) mit einer Brennereihefe (Lindner 86 von Kràl) und 2) mit einer Frohberg-Hefe, und dann weiter mit einer Mycoderma-Art aus Essigkahmhaut, die ich der Laboratoriumssammlung entnahm.

Die erstgenannte Saccharomyces-Art wählte ich wegen ihrer schön ausgebildeten Kolonieen, die unter dem Einfluß des Wechsels von Licht und Dunkelheit die bereits erwähnten konzentrischen Zonen zeigen, und die andere Art, weil sie, im Gegensatz zu der ersteren, ganz einfache Kolonieen bildet. Die Kulturen stellte ich meistenteils in der Weise an, daß ich Platten von Würzeagar bezw. Würzegelatine mit einer Platinöse voll Flüssigkeit einer in starker Gärung begriffenen Würzekultur der betreffenden Hefeart impfte. Mit Rücksicht darauf, daß die Kulturen später geschnitten werden sollten, wählte ich gewöhnlich Agar und benutzte nur in Ausnahmefällen Gelatinekulturen.

Je nach dem besonderen Zweck, den ich im Auge hatte, wurden die Kulturen im Lichte oder im Dunkeln, in Luft oder in Wasserstoff, bei schwankender oder konstanter Temperatur gehalten, um nach einer Wachstumsperiode von 4—15 Tagen fixiert und untersucht zu werden.

Infolge einer sehr starken Anhäufung von Zellmassen oder aus anderen unbekannten Gründen spalteten sich manche Kolonieen beim Einbetten in Paraffin in vertikaler Richtung, oder lösten sich von ihrer Unterlage, der unteren Agarschicht ab. Meistens jedoch ließen sie sich ganz gut präparieren und schneiden.

Will (28) beschäftigte sich mit dem Studium des Wachstums von 4 Arten untergäriger Bierhefen, die er teils in Flüssigkeiten, teils auf festen Nährböden züchtete. Er unterscheidet nach den verschiedenen Formen, welche die Hefezellen annehmen, je nachdem sie auf Flüssigkeiten als Kahmhaut oder auf festen Nährböden, als Kolonieen wachsen, 3 verschiedene Generationsformen dieser Hefearten, nämlich 1) Bodensatzhefe, 2) Kahmhautzellen 1. Generation und 3) Kahmhautzellen 2. Generation.

Will (29): „Mit diesem Befunde war auch Aussicht vorhanden, möglicherweise ein Merkmal aufzufinden, welches die Auffassung stützen könnte, daß es sich bei diesen verschiedenen Generationen der Hefe nicht bloß um vorübergehende, sehr labile Formveränderungen der Hefezellen, welche durch äußere Einflüsse, eine Veränderung des Nährsubstrates, insbesondere aber Mangel an Zucker, Zunahme des Säuregehaltes, intensive Berührung mit der Luft u. s. w. hervorgerufen werden, sondern um verschiedene, selbständige und feststehende, mit charakteristischen Eigenschaften begabte und durch diese begrenzte Formen handelt, welche allerdings, wenn auch nicht immer, durch Darbietung geeigneter Lebensbedingungen allmählich wieder ineinander übergeführt werden können."

Wir sehen von dem ersten Teil der Arbeit Wills ab und wenden uns gleich dem Teile zu, in welchem die Wachstumsformen der 4 Hefen auf festen Nährböden untersucht werden, da dieser Teil Beobachtungen enthält, die hier erwähnt werden müssen. Ich werde später mehrmals auf diese Arbeit zurückkommen und gebe daher später einige Auszüge daraus.

Nach Will (30) können die Ursachen, welche die Wachstumsform der Hefekolonieen auf festem Substrat bedingen, innere und äußere sein. In erster Beziehung kommt die Abstammung der Mutterzelle, das Alter der Kolonieen und die Beschaffenheit der eingesäten Zellen in Betracht. Die äußeren Ursachen, welche die Wachstumsform der verschiedenen Hefen bezw. deren verschiedene Entwickelungszustände beeinflussen können, sind:

1) Die Zusammensetzung der Nährlösung, in welcher sich die Hefe vor der Einsaat in das feste Substrat befand;

2) die chemische und physikalische Beschaffenheit des letzteren Substrates;

3) die Temperatur, welcher die Kulturen in den flüssigen und festen Substraten ausgesetzt sind;

4) die Lüftung;

5) in besonderen Fällen die Dicke der Gelatineschicht;

6) der Feuchtigkeitsgrad in der feuchten Kammer.

In meinen Versuchen habe ich, um die Verhältnisse zu vereinfachen, immer mit möglichst gleichartig zusammengesetzten Nährböden und genau nach demselben Verfahren gearbeitet, so daß hierdurch die 3 ersten obigen Variationsursachen ausgeschaltet wurden. Die Temperatur der Luft im Laboratorium schwankt sehr stark, ich bemühte mich jedoch, so gut es ging, die Kulturen unter möglichst geringen Temperaturschwankungen zu halten, durch Auflegen auf Thermostaten, Einpacken in Glasschalen, Watte und Papier. In besonderen Fällen, wenn es sich um konstante Temperatur handelte, kam der Brutschrank zur Verwendung.

Da ich sämtliche Kulturen in Petri-Schalen ansetzte, war der Luftzutritt gut und gleichmäßig. Auch der Feuchtigkeitsgehalt der umgebenden Luft dürfte nur zwischen engen Grenzen geschwankt haben.

Lindner (31) gibt über die Entstehung der Hefekolonieen folgende Erklärung: „Beim Anblick solcher Hefekolonieen drängt sich die Frage auf, wodurch die verschiedene Wachstumsweise bedingt ist.

„Eine teilweise Erklärung erhalten wir, wenn wir die Kolonie vorsichtig mit Wasser abspülen, bis wir auf die Gelatine kommen. Bei konzentrisch gezeichneten Kolonieen finden wir am Grunde ebenfalls noch viel schärfer ausgeprägt konzentrische Kreise, in denen sich die

Hefe festgewurzelt hat. Die Hefe am Grunde geht gewissermaßen sprungweise vor. Manche Riesenkolonieen, z. B. von vielen untergärigen Brauereihefen, lassen sich vollständig von der Gelatine abheben, ohne daß von dieser etwas mitgerissen wird; andere Hefen pressen sich dagegen tief in sie ein und bilden unten traubenähnliche Massen. Wieder bei anderen Hefearten wachsen die Kolonieen in dünnen Scheiben strahlenförmig aus und zerteilen sich mit zunehmendem Alter bei gleichzeitigem Eintritt von Nahrungsmangel und Trockenheit in ein zartes Wurzelsystem.“ Die Methode des Abspülens habe ich zuweilen angewendet, um Anhaltspunkte über die Art der Mycelbildung zu gewinnen, hauptsächlich bei Gelatinekulturen. Bei Agarkulturen, die sich leicht schneiden ließen, war ein Abspülen nicht nötig.

Die Kolonieen von Arten von Saccharomyces cerevisiae.

1) Brennereihefe Lindner 86.

Die Kolonieen dieser Hefe bilden unter normalen Kulturbedingungen auf Würzeagar im Alter von 2—3 Wochen große, etwas saftig aussehende, dünne Scheiben mit ausgebuchtetem Rande. Wenn das Licht freien Zutritt zur Kolonie hat, zeigt sie ungefähr vom 3. Tage an die erwähnte Zonenbildung (siehe oben). Jeden Tag wächst eine neue Zone hinzu, so daß nach 3 Wochen gegen 20 Ringe entstanden sind.

Kulturen, die im Dunkeln wuchsen, zeichnen sich dadurch aus, daß sie keine Zonen bilden und etwas matt aussehende Scheiben darstellen, die den Kolonieen von Frohberg-Hefe sehr ähnlich, jedoch weniger hoch als diese sind. Von dem Zentrum gehen bei beiden Arten von Kolonien mehr oder weniger tiefe radiale Furchen nach dem Rande hin.

Fig. 13, Taf. III zeigt die obere Randpartie einer 7—10-tägigen Kolonie, die hauptsächlich rundliche oder ovale Zellen von etwa $4 \times 6\ \mu$ Größe enthielt. Die Zellen enthalten große Vakuolen, welche fast das ganze Innere ausfüllen. Zuweilen, aber nicht häufig, kommen auch langgestreckte, wurstförmige Zellen, $2{,}5 \times 7\ \mu$, vor. Mitunter treten auch Riesenzellen (Größe $8 \times 9\ \mu$) auf, und zwar häufiger in den unteren Schichten als in den höher liegenden. Solche Gebilde bestehen manchmal aus zwei großen, durch einen Schlauch miteinander verbundenen Zellen.

In den mittleren Schichten der Kolonieen finden sich teils Zellen, die länger sind als die Zellen der oberen Schichten, ihnen aber sonst gleichen, teils kleine runde Zellen ($4 \times 4\ \mu$).

Alle Zellen dieser Schicht sind reicher an Zellinhalt und haben kleinere Vakuolen als die Zellen der oberen Schicht. Die Hauptachsen der langgestreckten Zellen haben eine senkrechte Lage.

An der Grenze zwischen Kolonie und Nährboden, manchmal in diesen hineingewachsen, stößt man auf sehr langgestreckte Zellen, die eine Größe bis zu $2 \times 42\ \mu$ erreichen (siehe Fig. 14). Sie sind nicht so reich an Inhalt wie die oben liegenden Zellen und haben meistens 3—4 Vakuolen. Ihrem Charakter nach scheinen sie mit den von Will als Kahmhautzellen zweiter Generation bezeichneten Zellen identisch zu sein.

Hier fehlen rundliche oder ovale Zellen vollständig, zuweilen dagegen trifft man Riesenzellen von $9 \times 6\ \mu$ Größe an. Wie schon erwähnt, wachsen häufig die Zellen der unteren Schicht in das Substrat hinein, und zwar nicht in einzelnen Fäden, sondern in großen, zusammen-

hängenden Massen, so daß diese Auswüchse bei schwacher Vergrößerung wie unregelmäßige nach unten gewachsene Höcker aussehen. Diese Mycelmasse oder, wie Will sich ausdrückt, dieser „rhizoidartige Anhang" ist am kräftigsten in der Mitte der Kolonie ausgebildet und wächst hier senkrecht nach unten. Gegen den äußeren Rand zu wird sie schwächer und weicht von der senkrechten Richtung in deutlicher Biegung nach außen ab. Will schreibt hierüber: „Je größer diese Anhänge werden, desto mehr zeigen sie eine ausgesprochene Wachstumsrichtung nach dem Rande der Kolonie". Beim Abspülen der Kolonie mit Wasser findet man, wie Lindner erwähnt, Ringe von Mycelbildung im Substrat, die genau den Zonen entsprechen, welche an der Kolonie vorhanden waren.

An den Rändern der Kolonieen finden sich längliche und ovale Zellen, die entweder schief oder horizontal liegen. Sie enthalten gewöhnlich eine kleine Vakuole und viel Protoplasma, ihre durchschnittliche Größe beträgt $3 \times 6\ \mu$.

In älteren Kolonieen fand ich mehrmals am äußersten Rande eine große Anzahl von Riesenzellen, die wahrscheinlich der Trockenheit und Anhäufung von Stoffwechselprodukten, die dort herrschte, ihre Entstehung verdankten.

Von der obersten bis zur untersten Zellschicht lassen sich also in allmählichem Uebergang alle Zellformen, von einer fast runden bis zu einer langgestreckten, fadenartigen Gestalt verfolgen.

2) Kolonieen der Frohberg-Hefe.

Die Kolonieen dieser Hefe auf Würzeagar sind mehr oder weniger rund mit scharf ausgebuchteten Rändern. Im allgemeinen ragen die Kolonieen etwas höher über die Oberfläche des Nährbodens empor als die der Brennereihefe 86, und haben eine spitze, erhabene, zentrale Partie. Von dem Zentrum gehen radiale Furchen nach den Rändern zu, aber von Zonenbildung ist nichts wahrzunehmen. Häufig gelingt es, die ganze Kolonie von ihrer Unterlage abzuheben. Nach dem Abspülen mit Wasser läßt sich nichts von einer Mycelbildung erkennen.

Die in der obersten Schicht (Fig. 15, Taf. IV) liegenden, vorwiegend runden oder ovalen Zellen ($4 \times 5\ \mu$) sind sehr arm an Inhalt und haben große Vakuolen. In der Mitte einiger dieser Zellen fand ich runde, dunkle Körper, deren Natur sich nicht näher feststellen ließ. Riesenzellen kamen verhältnismäßig selten vor.

In den untersten, auf dem Substrat ruhenden Schichten fanden sich sehr spitz oder lang ausgezogene Zellen mit kleinen Vakuolen und einer Größe von $2^1/_2 \times 10$—$15\ \mu$. Sie hatten der Hauptsache nach eine senkrechte Stellung (siehe Fig. 16) und man konnte deutlich sehen, daß sie in mehreren Schichten übereinander gelagert, aber nicht in das Substrat hineingewachsen waren.

Die Zellen der Randpartie sind etwas dicker als die der unteren Schichten und weniger langgestreckt. Neben diesen zwei Formen kommen zuweilen noch Zellen vor, die dadurch ausgezeichnet sind, daß ihr Protoplasma eine große Anzahl kleiner Vakuolen aufweist. Die Ursache dieser Erscheinung ist schwer anzugeben.

Die Riesenzellen sind in den unteren Schichten der Kolonieen am zahlreichsten und haben eine durchschnittliche Größe von $9 \times 10\ \mu$.

Auch in den Kolonieen der Frohberg-Hefe läßt sich eine allmähliche Abänderung der Zellform von den oberen zu den unteren Zellschichten, ähnlich wie in den Kolonieen der Brennereihefe, verfolgen,

jedoch fehlt bei der Frohberg-Hefe die dritte Zellform, die Mycelform, vollständig. Die Kolonieen der Frohberg-Hefe haben das Kennzeichnende, daß die Mycelbildung fehlt und daß Zonenbildung bei ihnen nicht auftritt, selbst dann nicht, wenn man sie dem Einflusse des Wechsels von Licht und Dunkelkeit aussetzt.

3) Die Kolonieen von Mycoderma cerevisiae.

Die Kolonieen dieses Organismus sind wegen ihrer eigenartigen Struktur, der Teilung der Kolonieen in mehrere scharf begrenzte Zonen und des eigentümlichen Wachstums des Mycels besonders interessant und lehrreich. Die beistehende Abbildung zeigt einen schematischen Schnitt durch die Kolonie.

Neben den zwei verschiedenen Zelltypen, die in Kolonieen von Saccharomyces cerevisiae, Lindner 86 vorkommen, fand ich in meinen Kolonieen noch andere, die ich bisher nur in Kolonieen von Kahmhefe angetroffen hatte, und zwar sind sie so regelmäßig, daß ich Veranlassung nahm, den Ursachen ihres Auftretens näher nachzuforschen.

Diese Kahmhefe wächst auf Würzeagar sehr kräftig und bildet Kolonieen mit regelmäßigem Rand und trockener, nicht glänzender, etwas gefalteter Oberfläche. Bei schwacher Vergrößerung sieht man, daß lange, dünne Zellen von der Kolonie herauswachsen. Unter gewöhnlichen Bedingungen ist von einer Zonenbildung nichts zu sehen. Sie ist jedoch vorhanden, und man kann sie durch Uebergießen der Kultur mit einer Flüssigkeit, z. B. geschmolzenem Agar, und nach Ablösung der oberen Zellschicht der Kolonie (vergl. oben) sichtbar machen.

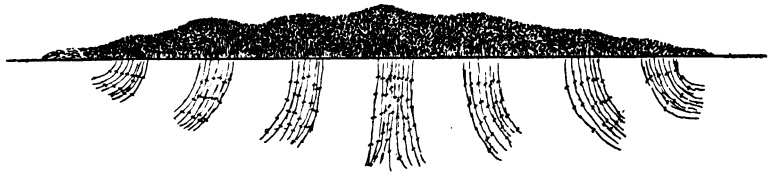


Fig. 7. Schnitt durch eine Kolonie von Mycoderma cerevisiae.

Die obere Schicht der Kolonie setzt sich aus kleinen, kugeligen Zellen von 3×2 μ Größe zusammen, die reich an Zellinhalt zu sein scheinen.

Die unmittelbar auf dem Nährboden sitzenden Zellen färben sich schwerer, sind länger, $6 \times 2^1/_2$ μ, scheinen viel ärmer an Inhalt zu sein und haben häufig 3—4 Vakuolen. Meistenteils sind sie der Hauptsache nach vertikal gestellt und bilden lange Ketten.

Aehnlich diesen eben beschriebenen Zellen sind andere, welche haufenweise in verschiedenen Teilen des unteren Teiles der Kolonie zusammenliegen. Sie sind etwas länger und breiter als die vorigen und enthalten nur wenige Vakuolen. Von einer Differenzierung des Zellinhaltes ist nichts zu bemerken. Das Vorkommen der verschieden gearteten Zellen dürfte durch den wechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit veranlaßt sein, eine Vermutung, die unterstützt wird

1) durch die regelmäßige Verteilung der Zellhaufen über den ganzen Querschnitt der Kolonie;

2) durch den Umstand, daß solche Haufen von Zellen in Kolonieen, die im Dunkeln gewachsen sind, überhaupt nicht zu sehen sind;

3) durch ihr schwaches Vermögen, Farbstoffe aufzunehmen.

Durch verschiedene Versuche, deren Resultate bereits oben angeführt sind, konnte gezeigt werden, daß die Säureproduktion im Licht und in Gegenwart von Sauerstoff viel energischer vor sich geht als im Dunkeln und ohne Luftzutritt.

Färbeversuche ergaben, daß der Farbstoff (Saffranin) weniger leicht von stark sauerem Material bei nachfolgendem Auswaschen mit Alkohol festgehalten wird, als von alkalischen. Die Vermehrung der Zellen war auch bei dieser Hefeart kräftiger im Dunkeln als im Licht.

Nach den Ergebnissen der oben erwähnten Versuche ist es nicht unmöglich, daß die Anhäufung der Stoffwechselprodukte in den unteren Partieen der Kolonieen die eingetretene Verlängerung der Zellen bewirkte. Charakteristisch für die Kolonieen dieser Sproßpilze ist die Bildung von Mycel, welches mit dem der echten Saccharomyceten keine Aehnlichkeit hat.

Das Mycel wächst nämlich nicht gleichmäßig über die ganze Unterseite der Kolonie, sondern in Bündeln von ca. 20 Zellen, die Zwischenräume neben sich freilassen, und die von höherliegenden Teilen der Kolonie ausgehen, wie es in der vorstehenden Figur schematisch dargestellt ist.

Der Umstand, daß die Mycelbildung nur an gewissen Stellen der Unterseite der Kolonie, die ziemlich regelmäßig verteilt sind, stattfindet, führt mich zu dem Schluß, daß wir auch hier wieder die morphologische Wirkung irgendwelcher periodisch wechselnden Kulturbedingungen, vielleicht des Wechsels der Belichtung vor uns haben. Die Mycelfäden, welche von der Mitte der Kolonie ausgehen, wachsen senkrecht in das Nährsubstrat hinein und bilden lange, sehr dünne Zellen von ca. $1\text{⁵} \times 1{,}5\ \mu$ Größe, während die Fäden am Rande nicht senkrecht nach unten gehen, sondern nach auswärts gebogen erscheinen. Die Zellen dieser Fäden besitzen entweder gar keinen Inhalt oder nur ganz wenig und dann nur an dem Ende der Zellen, das am weitesten der Kolonie abgewendet ist. Hier finden sich gewöhnlich 2—4 kleine, rundlich-ovale, leicht färbbare Zellen, die reich an Zellinhalt sind. Sehr wahrscheinlich wird das Protoplasma der langen, dünnen Mycelfäden zur Bildung dieser Zellen verbraucht. Man findet nämlich manchmal Mycelfäden, die ganz zusammengeschrumpft sind. Nach der Bildung dieser kleinen Sproßzellen entsteht wieder eine lange, nach unten gerichtete Mycelzelle, die ihrerseits wiederum mehrere kleine Sprossen hervorbringt, und so kann sich dieser Vorgang noch mehrere Male wiederholen und können Zellketten in einer Länge von ca. 0,9 mm entstehen.

Aeltere Kolonieen weisen eine sehr stark ausgeprägte Mycelbildung mit deutlich nach außen gekrümmten Ketten auf. Die Krümmung ist so stark, daß die Richtung der Ketten parallel zur Oberfläche des Substrats wird. Sie wachsen dann in einer Tiefe von ca. 60 μ weiter und bilden hin und wieder Sprossungen. Vielleicht hängt dies damit zusammen, daß die Ketten auf diese Weise ihren Bedarf an Nährstoffen und an Sauerstoff am leichtesten zu decken vermögen.

Es kommt auch vor, daß die Mycelfäden am Rand der Kolonie zur Oberfläche des Agars emporwachsen, um sich dort weiter auszubreiten, doch sind dies Ausnahmefälle und zählen nicht zu den typischen Erscheinungen des Wachstums.

Zuweilen trifft man Kolonieen mit einer Mycelbildung, die viel ausgedehnter ist als sie es gewöhnlich zu sein pflegt, und zwar in der Weise, daß unter dem Rande der Oberflächenkolonie Mycelfäden in großer

Zahl mit scharfer Biegung nach außen auftreten. In solchen Kolonieen finden sich reichliche Mengen von intercellulären, gelatinösen Stoffen, was vielleicht eine Folge ungünstiger Ernährungsbedingungen (Eintrocknen u. s. w.) ist.

Impft man Mycelzellen auf frischen Nährboden über, so erhält man Kolonieen von sehr charakteristischem Aussehen. Sie sind viel haariger oder filziger als die gewöhnlichen Kahmhefekolonieen, bestehen aus längeren Zellen und haben ein reich entwickeltes Mycel. Die in früheren Kolonieen erworbenen Eigenschaften der Zellen scheinen somit erblich zu sein.

Bei den Kolonieen der Hefearten treten, wie wir sehen, ganz ähnliche morphologische Verschiedenheiten der Zellen auf wie bei den Bakterienkolonieen. Bezüglich der Hefekolonieen schreibt Will (32): „Die verschiedenen Zellelemente, welche in der Haut regellos zerstreut sind, erscheinen in den normal ausgebildeten Riesenkolonieen in bestimmter regelmäßiger Weise angeordnet und bedingen den morphologischen Charakter derselben. Die Riesenkolonieen sind in bestimmter Weise organisiert. Mit dieser Organisation scheint aber im allgemeinen auch den verschiedenen Zellen eine verschiedene Funktion angewiesen zu sein; es geht also möglicherweise mit der Differenzierung der Funktion eine Differenzierung der Form Hand in Hand. Zum Teil scheint diese Differenzierung auch in der Beschaffenheit des Zellinhaltes zum Ausdruck zu kommen."

„Die, dem Prinzip der Arbeitsteilung entsprechend, besonderen Funktionen angepaßten Zellformen, deren spezielle Arbeitsleistung der Gesamtheit der die Riesenzellen aufbauenden Zellen zu Gute kommt bezw. deren Nachkommen, können aber durch Einführung in zuckerhaltige Lösungen wieder früher oder später zur Alkoholgärungsform zurückgeführt werden."

Ob, wie Will zu glauben scheint, eine Arbeitsteilung in den Kolonieen stattfindet, ist jedenfalls noch sehr fraglich. Wenn wir die am einfachsten gebauten Kolonieen, die Kolonieen von Frohberg-Hefe, betrachten, so finden wir zwischen ihnen und den Kolonieen von Bacillus subtilis große Aehnlichkeit. An den Rändern und der Oberfläche der Kolonieen finden wir normale oder beinahe normale Zellen, die durch Seitendruck ihrer Hauptachse nach horizontal oder schräg, in den mittleren und unteren Schichten dagegen senkrecht liegen. Nach meiner Ansicht ist diese Art der Lagerung die Folge von äußeren Wirkungen, namentlich von Druckwirkungen, und hat mit der Nährstoffzufuhr aus dem Nährboden nach den oberen Schichten der Kolonieen nichts zu tun. Ich habe bei meinen Untersuchungen des Mycels niemals Erscheinungen wahrgenommen, welche der Theorie der Arbeitsteilung zur Stütze hätten dienen können, oder welche darauf hindeuteten, daß das Mycelium eine besondere Rolle bei der Ernährung der ganzen Kolonie spielte.

Wie in den Bakterienkolonieen so werden jedenfalls auch in den Hefekolonieen durch Anhäufung von Stoffwechselprodukten in den unteren Schichten Veränderungen der Zellform bewirkt.

Bei der Brennereihefe haben wir es mit etwas komplizierteren Verhältnissen zu tun, und zwar, wie mir scheint, mit ähnlichen Verhältnissen und Wachstumsformen, wie sie uns in den von Will beschriebenen Kolonieen entgegentreten.

In den oberen Schichten sind die Zellen von rundlicher Form und

sehr ähnlich den Zellen der Bodensatzhefen; in den mittleren und äußeren Schichten sind sie wurstförmig wie die sogenannten Kahmhautzellen erster Generation, und in den unteren Teilen der Kolonieen erscheinen sie langgestreckt und gleichen den Kahmhautzellen zweiter Generation, welche die „rhizoiden Anhänge" der Kolonieen bilden. Diese letztgenannten Zellen wachsen tief in das Nährsubstrat hinein, wie Will es beschreibt (33), wenn er sagt: „Je größer diese Anhänge werden, desto mehr zeigen sie eine ausgesprochene Wachstumsrichtung nach dem Rande der Kolonie".

Obgleich dieses Mycel in vielen Kolonieen reich entwickelt ist und seitlich über den Rand der Oberflächenkolonie hinauswächst, konnte ich doch nur in Ausnahmefällen beobachten, daß es bei der Ausbildung der Oberflächenkolonie beteiligt ist. Wenn ich Will richtig verstehe, scheint er anderer Ansicht zu sein, da nach ihm „die weitere Entwickelung der Riesenkolonie dadurch erfolgt, daß die rhizoiden Anhänge der Unterseite über den Rand der Kolonieen vorgreifen und dann eine neue Zuwachszone um denselben auf der Gelatineoberfläche bilden". Man darf freilich nicht vergessen, daß Will mit Gelatine, ich hingegen mit Agar arbeitete, und daß deswegen die beiderseitigen Beobachtungen nicht ohne weiteres vergleichbar sind. Jedenfalls haben die Gelatinenährböden den großen Nachteil, daß durch das leicht eintretende Weichwerden oder durch ein Einsinken der Kolonieen in die Gelatine die Beobachtungen erschwert werden.

Nach der Ueberzeugung, die ich gewann, wird durch das Mycel weder die Aufnahme der Nährstoffe für die gesamte Kolonie erleichtert, noch auch das Oberflächenwachstum der Kolonie gefördert. Es ist vielmehr das Auftreten von Mycel als das Symptom gewisser morphologischer und physiologischer Zustände einer Kolonie aufzufassen. Das Mycel wächst nicht von der Hauptmasse der Kolonie fort, um neue Nahrung zuzuführen, sondern nur infolge des positiven Chemotropismus der Nahrungsstoffe und des negativen Chemotropismus der Stoffwechselprodukte.

Ist diese Auffassung richtig, so läßt sich erwarten: 1) daß in älteren Kolonieen, in denen die Anhäufung von Stoffwechselprodukten am stärksten ist, auch die Mycelbildung am stärksten hervortritt;

2) daß Kolonieen von Organismen derselben Art ein ganz verschiedenes Aussehen, was Gestaltung der Kolonie und Form der Zellen anbelangt, zeigen werden, je nach dem sie sich auf frischen Medien oder auf Nährböden, die mit Stoffwechselprodukten bereits beladen sind, z. B. auf Biergelatine entwickeln. Beides wird durch meine Versuche bestätigt.

Ich benutzte zu meinen Versuchen die Brennereihefe 86 und stellte mir die Biergelatine in der Weise dar, daß ich die Würze, die 10 Tage lang gegoren hatte, mit 10 Proz. Gelatine versetzte und dann bei 56—60° sterilisierte. Die so erhaltene Gelatine zeigte genau dieselbe Konsistenz wie gewöhnliche Würzegelatine. Des Vergleiches wegen wurden stets Kulturen auf Würze- und Biergelatine nebeneinander angelegt, und zwar mit Hefe No. 86, d. h. mit derselben Hefe, durch welche die Würze vergoren war.

Um die Versuche weiter auszugestalten, filtrierte ich vergorene Würze von ihrem Bodensatz ab, sterilisierte das Filtrat möglichst vollkommen bei 55° und impfte dann wieder mit Hefe 86. Dies wiederholte ich mehrmals und konnte in jeder der also erhaltenen Kulturen beobachten, daß

die Hefe im Laufe von 2—3 Tagen zu wachsen anfing und keulenförmige, langgestreckte Zellen bildete, die voll von Körnchen und Fett und den Mycelzellen der Kolonieen ähnlich waren.

Die Bodensatzhefe wuchs auf Biergelatine viel langsamer als auf gewöhnlicher Würzegelatine. Es bildete sich in einigen Tagen eine einfache Zellschicht, die langsam zu einer glatten Kolonie auswuchs, die kein charakteristisches Merkmal aufwies, nur weich, saftig und glänzend aussah.

Die meisten Zellen dieser Kolonie waren langgestreckt, unterschieden sich deutlich von denjenigen Zellen derselben Art, die in den ersten 2—3 Tagen auf Würzegelatine wachsen, mit voranschreitendem Alter der Kolonieen wurden die Zellen immer ähnlicher.

Auf Gelatine, die mit viermal vergorener Würze bereitet war, blieben die Kolonieen noch kleiner und ließen nach 2—3 Wochen einen infolge Mycelbildung stark ausgefransten Rand erkennen. Daß sich Biergelatine zur Züchtung der Mycelform, d. h. der Kahmhautzellen zweiter Generation, besser eignet als Würzegelatine, hat auch Will (34) beobachtet. „An den Kahmhautzellen zweiter Generation lassen sich zwei Wachstumsformen unterscheiden. Bei der einen Form entstehen an den Enden der Mutterzellen, gedrungen-ovale bis rundliche Seitenglieder, welche anfangs unregelmäßige Zellhaufen bilden, später aber auch den Wachstumstypus I annehmen. Im zweiten Falle entsteht dadurch, daß die Mutterzellen weiter wachsen, ein ausgebreitetes, lockeres Netzwerk. Auf Würze ist die erste Wachstumsform vorherrschend, auf Biergelatine die zweite.“ Hier sehen wir, daß die Anhäufung von Stoffwechselprodukten (oder Erschöpfung des Nährbodens wie auf Biergelatine und in alten Kulturen) die Bildung von Kahmhautzellen zweiter Generation begünstigt. Je älter eine Kolonie wird, desto stärker ist die Mycelbildung. Sie ist also nicht abhängig von Unterschieden in der Konzentration des Nährbodens, sondern ist bedingt durch die Gegenwart von Stoffwechselprodukten. Hierdurch ist es nach Will (35) leicht erklärlich, daß „bei sämtlichen älteren Riesenkolonieen auch die Zuwachszone viel schärfer markiert war, als bei den Kolonieen von Bodensatzhefe“. Wenn diese Zuwachszonen in der von ihm erwähnten Weise entstehen, so stimmt dies mit seiner Aeußerung überein, daß „wenn diese Zellgenerationen (1. und 2. Generationen der Kahmhautzellen) ihrem inneren Wesen nach identisch wären, man doch wohl erwarten dürfte, daß die Kahmhautzellen 2. Generation in üppigster Weise in die Gelatine hineinwachsen und dort rhizoidartige Anhänge bilden würden“. An den von mir hergestellten Kulturen zeigte sich deutlich, daß in Kolonieen auf Nährmedien, die mit sehr altem Bier hergestellt wurden, diese Bildung von Mycelzellen oder rhizoidartigen Anhängen stark begünstigt wurde.

Außer der Anhäufung von Stoffwechselprodukten gibt es eine andere Bedingung, durch welche die Bildung von Mycelzellen in den Kolonieen noch nachhaltiger gefördert wird. Es ist dies die Einwirkung des Lichtes. Wie die aus kraftvoll entwickelten Zellen bestehenden konzentrischen Ringe der Oberflächenkolonieen durch Lichtwirkung hervorgerufen werden, so beruht die Bildung konzentrischer Mycelkreise im Substrat auf der gleichen Wirkung.

Unter den Bierhefen der Praxis gibt es eine ganze Reihe, die Oberflächenkolonieen mit konzentrischen glatten oder gefalteten Zonen bilden. Bei genauerer Beobachtung findet man, daß z. B. Sacch. cerevisiae

Lindner 86 auf Würzeagar im Laufe von 3—4 Tagen zu einer glatten, erhabenen Kolonie auswächst, an die sich im weiteren Verlauf des Wachstums täglich eine Zone nach außen anlegt. Eine ähnliche Zonenbildung beobachtet man, wie schon oben erwähnt, sehr deutlich an den Kolonieen der Schimmelpilze, und es lag nahe, sie bei den Hefekolonieen aus denselben Einflüssen zu erklären, wie es bei den Schimmelpilzkolonieen geschah.

Wie sie zustande kommen, ist nicht ohne weiteres zu entscheiden, da es mehrere Möglichkeiten gibt:

1) könnten sie durch regelmäßig wiederkehrende Wachstums- und Ruheperioden der Oberflächenzellen verursacht sein;

2) käme die von Lindner aufgestellte Ansicht, daß die Hefe am Grunde der Kolonie gewissermaßen sprungweise vorgeht, in Betracht;

3) wäre es möglich, daß die Kolonie sich zunächst von der Impfstelle aus bis zu einer bestimmten Grenze ausdehnt, und daß dann weiter ein aus langgestreckten Zellen bestehendes Mycel auftritt, das die Zonenerscheinung hervorbringt.

Der erste Fall trifft, wie wir gesehen haben, sehr wahrscheinlich für Bac. subtilis zu, und es war daher zu vermuten, daß, weil die Hefe im Dunkeln besser als im Licht wächst, die Zonen des stärkeren Wachstums sich während der Zeit bildeten, während der die Kultur im Dunkeln stand. Diese Ansicht hegte ich lange Zeit, mußte sie aber schließlich doch aufgeben.

Allgemein verbreitet ist die zweite Ansicht, nach welcher die bis zu einem gewissen Grade entwickelte Kolonie anfängt, Mycel auszusenden, das aus dem Nährboden zur Oberfläche emporwächst und immer wieder neue, weiter vom Zentrum abliegende Zonen bildet. Man sollte daher erwarten, daß sich das Mycel in einem Schnitte durch die Kolonie als eine wellenförmig gebogene Linie darstellte (siehe Fig. 7), was aber nicht der Fall ist. Nach der dritten Ansicht nimmt man an, daß das Wachstum der Kolonieen an der Oberfläche Tag und Nacht annähernd gleich schnell erfolgt, daß aber am Tage unter dem Einfluß des Lichtes langgestreckte Zellen und Mycelfäden im unteren Teile der Kolonie entstehen, durch welche Zonen erzeugt werden.

Da diese langgestreckten Zellen allmählich ihrer Hauptachse nach in senkrechte Lage kommen, so wäre es wohl möglich, daß sie beim Weiterwachsen die obersten Zellschichten der Kolonie heben, und dadurch im Oberflächenbelag das Auftreten konzentrischer, etwas über die Oberfläche emporragender Ringe veranlassen.

Daß solche Vorgänge wirklich stattfinden, wurde an den Kolonieen von Saccharomyces und Mycoderma nachgewiesen. Ein weiterer Beweis liegt darin, daß Mycelbildung in Plattenkulturen von Saccharomyces- und Mycoderma-Arten, die im Dunkeln wachsen, ganz ausbleibt.

Daß andere Saccharomyces-Arten, wie z. B. Frohberg-Hefe, weder im Dunkeln noch im Lichte Mycel bilden, erklärt sich aus der gänzlichen Unempfindlichkeit dieser Arten gegen Licht.

3. Die Kolonieen der Schimmelpilze.

Ich beschäftigte mich verschiedentlich auch mit Kolonieen von Schimmelpilzen. Da ich aber beim Präparieren auf Schwierigkeiten stieß und da ich bald sah, daß das Studium dieser Kolonieen sich weit

weniger einfach gestaltete, als ich erwartet hatte, entschloß ich mich, vorläufig davon abzusehen und es vielleicht später aufzunehmen. Ich bekam die besten Präparate aus Schimmelkolonieen durch Härtung mit Formalindämpfen, nachfolgendes Bespritzen mit Aether und Alkohol und Uebergießen mit geschmolzenem Agar. Es ließen sich aber Schnitte der Kolonieen von Schimmelpilzen nach dieser Vorbereitung lange nicht in der Vollkommenheit herstellen, wie bei Bakterien und Hefen. Stets fanden sich kleine Luftbläschen zwischen den zwei Agarschichten, die das Präparat verdarben und namentlich die ursprüngliche Anordnung der Sporenträger nicht mehr erkennen ließen.

Kolonieen von Oidium lactis.

Die Kolonieen dieses Organismus sind auf Agar weißlich-grauschimmernde und je nach der Varietät gar nicht oder kaum über die Oberfläche des Nährbodens emporragende, oft filzig aussehende Gebilde.

An den Kolonieen, die unter dem wechselnden Einfluß von Licht und Dunkelheit oder unter dem Einfluß von Temperaturwechsel gewachsen sind, kann man regelmäßige Zonen beobachten (vgl. Fig. 17, Taf. II und Fig. 18, Taf. IV). Um die Entstehung dieser Zonen näher zu studieren, wurden Schnitte von den Kolonieen gemacht, deren Betrachtung zu folgenden Ergebnissen führte:

Auf der Oberfläche des Nährbodens erkennt man erhabene, regelmäßig angeordnete Massen von Konidien (vgl. Fig. 18), die am höchsten in der Mitte, d. h. im ältesten Teil der Kolonie sind und nach außen hin an Größe abnehmen.

Die Konidien haben hervortretende, aber nicht scharfe, sondern abgerundete Kanten und sind $3 \times 4^1/_2$ μ groß. Vakuolen kommen verhältnismäßig selten vor und die Zellen sind mit einem körnigen Inhalt angefüllt. In den Zonen der Konidien kommen an der Oberfläche auch Riesenzellen von unregelmäßiger Form vor. Sie haben eine dicke Haut und lassen von einem Zellinhalte nichts erkennen. (Größe 8×9 μ.)

Direkt unter der Oberfläche und im Agar eingebettet liegen lange Ketten von scharfkantigen Konidien, deren Größe ca. 6×4 μ beträgt. In Bezug auf Zellinhalt und Vakuolen zeigen sie große Aehnlichkeit mit den Zellen der Oberfläche.

Noch tiefer im Nährboden erkennt man lange, dicke Mycelfäden, welche aus Zellen von 5×110 μ Größe bestehen. Sie scheinen ihren Ursprung in den zentralen oberen Schichten des Agars zu haben, gerade unter dem Zentrum der Oberflächenkolonie. Es ist mir bis jetzt nicht gelungen, Zwischenformen zu entdecken, aus denen sich die Bildung der Konidien aus den Mycelfäden schließen ließe. Sie wachsen vom Mittelpunkt der Kolonie aus nach auswärts und unten bis zu einer Tiefe von ungefähr $^2/_3$ der Dicke der Agarschicht.

Hin und wieder schicken sie dünne Mycelfäden in eigenartigen Verzweigungen nach oben und nach aussen, die, sobald sie in die Nähe der Oberfläche kommen, gewöhnlich in Konidien zerfallen, und, wenn sie bis auf die Oberfläche vordringen, dort zu den schon erwähnten erhabenen Massen auswachsen.

Zuweilen zerfallen die tief im Substrat liegenden Mycelfäden ebenfalls in Konidien. Diese Konidien sind jedoch nicht nur nach Größe, sondern auch nach ihrem Zellinhalt von den Konidien der Oberflächenkolonie verschieden. Sie sind länger und dünner, ihre Größe beträgt

$7 \times 2{,}5\ \mu$, sie besitzen meistenteils 2 oder 4 Vakuolen und ihr Zellinhalt ist frei von Körnern.

Da die meisten Zellfäden nach oben gerichtet sind, wenn sie in Konidien zerfallen, so scheint es, als ob die Bildung der Konidien aus den Mycelfäden unter dem Einfluß des Lichtes erfolge. Wodurch das Emporwachsen der Mycelfäden an die Oberfläche veranlaßt wird, konnte ich noch nicht ermitteln. Auch für das Vorkommen von Riesenzellen in den Oberflächenhaufen fehlt es noch an einer Erklärung.

Die Kolonieen eines Mycoderma-ähnlichen Organismus.

Der Organismus, mit dessen Kolonieen ich mich beschäftigte, hat große Aehnlichkeit mit Mycoderma rubrum (Lasché). Er unterscheidet sich von diesem jedoch durch seine Fähigkeit, Farbstoffe zu bilden. Er erzeugt nämlich im Licht einen tiefroten Farbstoff. Im Dunkel unterbleibt die Farbstoffbildung gänzlich.

Schon eine kurze, etwa 2 Minuten währende Belichtung reicht hin, um in einer vorher im Dunkeln gewachsenen Kultur nicht nur die Farbstoffbildung hervorzurufen, sondern auch die Wachstumsform völlig umzuändern.

Während im Dunkeln das Mycel sich sehr stark vermehrt, die Sprossung aber gänzlich oder beinahe gänzlich unterbleibt, beginnt diese unter dem Einfluß des Lichtes sehr energisch. Dabei tritt bei abwechselnder Einwirkung von Licht und Dunkelheit Zonenbildung ein.

Ein Schnitt durch eine solche Kolonie zeigt an der Oberfläche des Agars eine Reihe unregelmäßiger Haufen von Zellen (vgl. Fig. 17, Taf. IV), die in der Mitte der Oberfläche zusammengewachsen und dicker sind als die gegen den Rand hin wachsenden. Sie bestehen aus Zellen von $4 \times 4\ \mu$, die sich, weil sie in eine gelatinöse Masse eingebettet sind, nur sehr schwer untersuchen lassen. Sie scheinen keinen differenzierten Inhalt zu haben und auch frei von Vakuolen zu sein.

Im Substrat findet man Fäden aus langgestreckten, sehr dünnen Zellen ($7 \times 1{,}5\ \mu$) bestehend, die hin und wieder Sprossungen von traubenförmigen Massen aussenden. Viele Zellen dieser Mycelfäden wachsen nach der Oberfläche und tragen hier, wie es scheint, durch ihre weitere Vermehrung zur Vergrößerung der Oberflächenkolonie bei.

Auch die Mycelzellen, welche nicht an die Oberfläche gelangen, treiben Sprossungen, die der Mehrzahl nach unter der Oberfläche des Nährbodens liegen. Da ich jedoch viele Abweichungen beobachtete, wage ich es noch nicht, bestimmte Behauptungen über die Wachstumsvorgänge aufzustellen.

Schluß.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Form der Kolonieen.

1) Die große Aehnlichkeit der Form der tiefliegenden, d. h. völlig im Nährmedium eingeschlossenen Kolonieen mit Hohlräumen, die durch Gase gebildet werden, oder mit der Gestalt freischwebender Flüssigkeitstropfen macht es wahrscheinlich, daß bei der Bildung der Gestalt der Kolonieen dieselben Kräfte tätig sind, welche den Gasblasen ihre Gestalt verleihen, und daß die Gestaltung der Kolonieen sowohl als auch

der Gasblasen, unter dem Einfluß gewisser physikalischer Eigenschaften des Nährmediums, namentlich dessen Elastizität, Kohäsion und Oberflächenspannung steht.

2) Für die Gestaltung der Oberflächenkolonieen kommt vor allem das Maß der Adhäsion zwischen den wachsenden Zellen und der Oberfläche des Nährbodens, sowie die Wirkung der an der Oberfläche des Nährbodens stets vorhandenen kleinen Unebenheiten in Betracht. Die Unebenheiten bilden Widerstände, welche die Ausbreitung der Kolonie erschweren. Hierdurch wird eine Verschiebung der sich vermehrenden Zellen gegeneinander und übereinander bewirkt.

Beide Umstände führen in ihrem Zusammenwirken zu einer kreisrunden Form der Kolonie, die um so vollkommener auftritt, je gleichmäßiger der Nährboden in seiner ganzen Ausdehnung beschaffen ist.

3) Ist das Wachstum der Organismen mit Absonderung von Schleim verbunden, so hat dieses zur Folge, daß die Kolonieen eine annähernd kugelförmige Gestalt annehmen und ein glänzendes Aussehen erhalten. Beispiele hierfür sind die Kolonieen von Micrococcus a (Schöne), Leuconostoc, Torula-Arten u. s. w.

4) Dadurch, daß die meisten Zellen in der Mitte einer Kolonie bald an Wachstumsenergie einbüßen oder ganz absterben, während die Zellen am äußeren Rande ungestört fortwachsen können, wird das Entstehen flacher Oberflächenkolonieen bedingt. Wenn die Kolonieen gewisser Organismen, namentlich die mancher Hefen, eine größere Dicke aufweisen, so wird dies vermutlich durch die besondere Gestalt und Lage der einzelnen Stellen in der Kolonie bedingt.

5) Durch zahlreiche Versuche mit verschiedenen Organismen bei verschiedenen langen Wachstumsperioden wurde bewiesen, daß die Bakterien die Fähigkeit haben, Wasser aus dem umgebenden Nährboden anzuziehen, oder durch Verbrennung organischer Stoffe zu erzeugen.

6) Auch dieses Wasser hat Einfluß auf die Form der Kolonie insofern, als es entweder die Bewegung der Bakterien über die ganze Oberfläche der Kolonie und vor allem am Rande längere Zeit ermöglicht.

7) Die Konzentration des Nährbodens scheint einen doppelten Einfluß auf die Form der Kolonieen auszuüben, indem von ihr a) die Konsistenz und der Wassergehalt des Nährbodens und b) die Fähigkeit des Nährbodens, beim Zusammenziehen mehr oder weniger Wasser auszupressen, abhängt.

8) Für die Gestalt der Schwimmkolonieen gilt dasselbe, was unter 1 zu der Gestalt der ganz im Nährboden eingebetteten Kolonieen bemerkt wurde.

9) Eine sehr große Anzahl verschiedener Organismen ist empfindlich für Lichtwirkung. Die Lichtwirkung wird durch die Anwesenheit von Luft oder Sauerstoff verstärkt und tritt dadurch in Erscheinung, daß sie Aenderungen im Wachstum bei der Kolonieenbildung und in der Fähigkeit der Farbstoffproduktion hervorbringt. Schon das diffuse Tageslicht genügt, um an den Kolonieen vieler Bakterien, Hefen und Schimmelpilze gewisse kennzeichnende Erscheinungen, z. B. die Bildung regelmäßiger konzentrischer Zonen hervorzurufen.

10) Neben dem Licht scheint auch die Temperatur das Aussehen der Kolonieen zu beeinflussen. Die Wirkung der Temperatur geht jedoch nicht so tief wie die des Lichtes. Während nämlich die Temperatur lediglich graduellen Wechsel in der Intensität der Zellfunktionen hervor-

ruft, ist das Licht im stande, unmittelbar morphologische und physiologische Veränderungen der Zellen zu bewirken.

Struktur der Kolonieen.

1) Die Kolonieen der niederen Organismen weisen einen bestimmten Bau insofern auf, als die einzelnen Zellen in den verschiedenen Teilen einer Kolonie nicht nur eine gewisse regelmäßige Anordnung erkennen lassen, sondern sich auch durch ihre Form und den Gehalt an Zellplasma unterscheiden.

2) Bei den Bakterienkolonieen finden wir das lebhafteste Wachstum am äußeren Rande der Kolonieen und hier haben auch die Zellen ihre normale Größe. Im Zentrum und in den mittleren Schichten der Kolonieen sind die meisten Zellen abgestorben und haben Involutionsformen angenommen. Sporenbildung scheint an der Oberfläche lebhafter zu erfolgen als in anderen Teilen der Kolonieen.

3) Bei den Hefen ist die Struktur der Kolonieen mannigfaltiger und komplizierter, als bei den Bakterien. Die Differenzierung der Zellen in verschiedenen Teilen der Kolonieen tritt stärker hervor, und die Kolonieen zeigen eine sehr regelmäßige Anordnung.

4) An der Oberfläche der Kolonie wachsen rundliche oder ovale Zellen, unmittelbar auf dem Substrat sind sie langgestreckt und dünn und je nach der Hefeart und den Kulturbedingungen wird im Substrat bald ein starkes Mycelsystem gebildet, bald fehlt es gänzlich. Daß dieses Mycelsystem bei allen bis jetzt untersuchten, im Dunkeln gewachsenen Hefekulturen fehlt, bei vielen am Licht gewachsenen Kulturen aber hervortritt, muß auf besondere Empfindlichkeit einzelner Hefearten gegen Licht geschlossen werden. Mycel wird stärker in alten Kulturen gebildet, d. h. in Nährböden, die reich an Stoffwechselprodukten sind.

4) In keiner der untersuchten Kulturen waren Spuren einer von verschiedenen Autoren behaupteten Arbeitsteilung nachzuweisen.

5) Die Struktur der Kolonieen von Schimmelpilzen ist noch wenig untersucht, da man bei der Herstellung von Schnitten solcher Kulturen auf Schwierigkeiten stößt, die zu überwinden bis jetzt noch nicht gelungen ist.

Herrn Geheimrat Fleischmann, in dessen Laboratorium diese Arbeit gemacht wurde, sowie Herrn Prof. Berthold und Herrn Dr. Rahn, die mich mit wertvollen Ratschlägen unterstützten, spreche ich meinen besten Dank aus.

Literatur.

1) Münden, Beiträge zur Cytoblastenfrage. (a) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1896 u. 1897. b) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V.)
2) Serkowski, St., Ueber den Bau der Bakterienkolonieen. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. 1901.)
3) Axelrad, Cäsar, Ueber Morphologie der Kolonieen pathogener Bakterien. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XLIV. 1903.
4) Flügge, Die Mikroorganismen. (Charakter d. Bakt. Bd. I. 1896. p. 129.)
5) Gotschlich, in Kolle-Wassermann, Handbuch d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. 1904.
6) Jendrassik, Ueber geometrisch regelmäßige Bakterienkolonieen. (Ref. Kochs Jahresber. 1891. p. 43.)
7) Gotschlich, Aetiologie der Mikroorganismen. (Flügge, Mikroorganismen. 1896.)
8) Hansen, Emil Chr., Bot. Centralbl. Bd. XXI. 1885. p. 181.
9) Will, H., Zeitschr. f. ges. Brauwesen. Bd. XX. 1897. p. 447.
10) Ficker, Ueber Wachstumsgeschwindigkeit des Bact. coli commune. Inaug.-Diss. Leipzig 1894.

11) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. p. 167.
11a) —, Ebenda p. 205.
12) Bremer, Inaug.-Diss. Münster 1902.
13) Dunham, ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. X. p. 382.
14) Rosenthal, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LV.
15) Kny, Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. II. 1884. p. 129.
16) Lohmann, Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellbildung bei Saccharomyces cerevisiae und anderen Hefen. Diss. Rostock 1896.
17) Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.
18) Milburn, Ueber Aenderungen der Farben bei Pilzen und Bakterien. Inaug.-Diss. Halle 1904.
19) Oudemann, A. et Koning, C., Arch. Néerlandaises des sciences exact. et natur. 1903.
20) Fischl, Fortschr. d. Med. Bd. XX. 1887.
21) Neisser, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. 1888.
22) Jacobi, Ebenda.
23) Hardy, Journ. of Physiol. Vol. XXIV. 1899.
24) Pick, Berlin. klin. Wochenschr. 1901.
25) Kellermann, Journ. of applied Microscopy. Vol. V. 1902.
26) Gotschlich, in Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. 1904. p. 70.
27) —, Ebenda p. 43.
28) Will, Zeitschr. ges. Brauwesen, ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. I—XIII.
29) —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. II.
30) —, Ebenda Bd. V. 1899. p. 769.
31) Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 3. Aufl. 1903.
32) Will, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 135.
33) —, Ebenda Bd. IX. 1902. p. 139.
34) —, Ebenda Bd. V. 1899. p. 772.
35) —, Ebenda Bd. XIV. 1905. p. 130.
36) Mazé et Pacottet, Récherches sur les ferments des maladies des vins. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVIII. 1904. p. 244.
37) Preisz, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. 1904. p. 280.
38) Saul, Berlin. klin. Wochenschr. 1900. No 47.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Schnitt durch eine tiefliegende Kolonie von Bac. lactis albus.

Fig. 2—3. Einfluß der Konzentration des Nährbodens auf die Form der Kolonieen. Kulturen von Bac. pseudoramosus.) Fig. 2: 1,5-proz. Agar. Fig. 3: 4-proz. Agar.

Fig. 4—5. Kolonieen, die eine radiäre Anordnung zeigen. Fig. 4: Bac. subtilis. Fig. 5: Bact. coli.

Fig. 6. Penicillium glaucum, Kolonie mit konzentrischen Zonen von Sporenträgern.

Fig. 7—8. Oidium lactis. Fig. 7: Bei Wechsel von Licht und Dunkelheit. Fig. 8: Dunkelheit und konstante Temperatur.

Fig. 9—10. Schleimbildende Torula. Fig. 9: Entstehung der Kolonieen, Fig. 10: Feinere Struktur der Kolonieen.

Fig. 11. Bac. subtilis-Kolonie. Schnitt.

Fig. 12. Bac. megatherium-Kolonie. Schnitt.

Fig. 13—14. Saccharomyces-Kolonie (Linder 86). Schnitt. Fig. 13 oben, Fig. 14 unten.

Fig. 15—16. Frohberg-Hefe-Kolonie. Schnitt. Fig. 15 oben, Fig. 16 unten.

Fig. 17. Mycoderma-ähnlicher Organismus. Kolonie. Schnitt.

Fig. 18. Oidium lactis-Kolonie. Schnitt.

OF THE UNIVERSITY OF

Fig. 1.

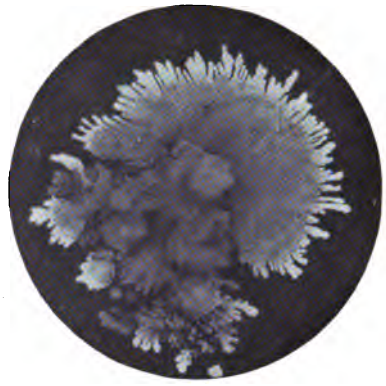


Fig. 2.

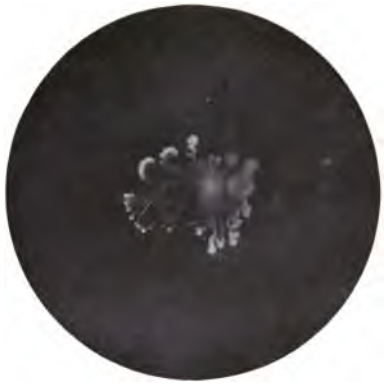


Fig. 3.

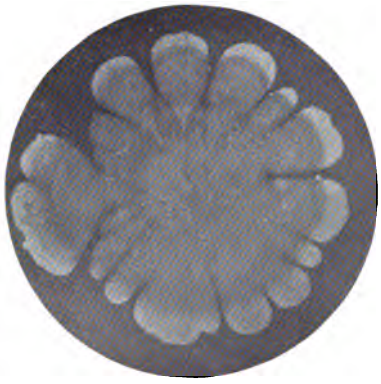


Fig. 4.

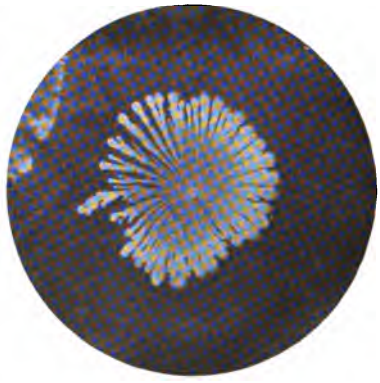


Fig. 5.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Fig. 11.

Fig. 12.

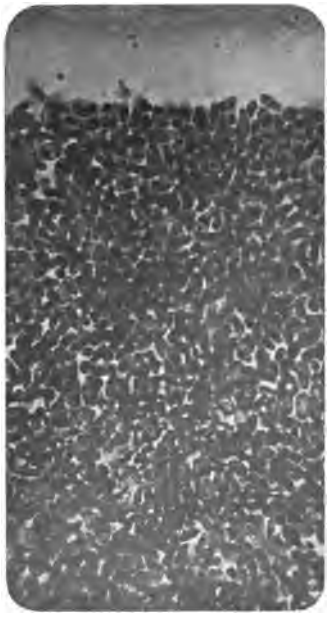


Fig. 13.

Fig. 14.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Lebenslauf.

Ich, Henry Brougham Hutchinson, wurde am 31. Januar 1880 als Sohn des Kaufmanns W. Hutchinson zu Bolton (Grafschaft Lancashire, England) geboren. Ich besuchte dort die Higher Grade School bis zu meinem 16. Lebensjahre und ging dann in die landwirtschaftliche Praxis. Von Herbst 1900 bis Herbst 1903 besuchte ich das Lancashire County Council Agriculture College, Harris Institute in Preston und erwarb mir das National Diploma of Agriculture und das National Diploma of Dairying. Im Herbst 1903 wurde ich dann an der Göttinger Universität immatrikuliert und blieb dort bis zu meiner Promotion. Ich besuchte die Vorlesungen und Uebungen folgender Dozenten: Berthold, Cohn, von Esmarch, Fleischmann, Koch, Lehmann, Peter, von Seelhorst, Tollens, Wallach.

Allen meinen hochverehrten Lehrern spreche ich meinen besten Dank aus.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3112

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 3112

166233

QR75
H8

BIOLOGY
LIBRARY
G

THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA LIBRARY